



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

Trabajo de Tesis Doctoral:

Calidad poscosecha de naranjilla (*Solanum quitoense* Lam) y alternativas tecnológicas para retrasar el deterioro. Elaboración de un producto panificado enriquecido con naranjilla.

Bioq. María José Andrade Cuví

Directora: Dra. Analía Concellón
Codirector: Dr. Juan Bravo Vásquez

2018

El presente trabajo de tesis para acceder al grado de **Doctor de la Facultad de Ciencias Exactas** de la Universidad Nacional de La Plata fue realizado por la Mag. María José Andrade Cuvi en la Universidad UTE (Ecuador) y en el Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA, UNLP- CONICET-CIC) - La Plata (Argentina) bajo la dirección de la Dra. Analía Concellón y codirección del Dr. Juan Bravo Vásquez.



¡Que nos roben todo, menos la esperanza!
R.C.D.

A mis padres, Gonzalo y Zoilina,
por enseñarme a volar y acompañar mis rutas

a Daniel,
y a mis pequeños Martina y Joaquín,
por ser el viento que impulsa mis alas

a **Abbá**,
porque cuando dejé de pedir, recibí solo aquello que precisaba.

A las instituciones que hicieron posible el financiamiento y desarrollo del trabajo experimental y redacción de esta investigación y a sus autoridades, en **Ecuador**: Universidad UTE, Facultad de Ciencias de la Ingeniería e Industrias y Centro de Investigación de Alimentos (CIAL). Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador. Carrera de Ingeniería de Alimentos de la Universidad San Francisco de Quito. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). Coordinación General de Laboratorios de la Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de Calidad del Agro–AGROCALIDAD. En **Argentina**: Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA, UNLP-CONICET-CIC) y Facultad de Ciencias Exactas-UNLP, La Plata.

A quienes de una u otra manera han formado parte de esta tesis doctoral, permitiéndome comprobar, de sobra, que la calidad de una persona va más allá de su formación profesional, de un cargo o un título:

Analía Concellón, mi directora, amiga y hermana. Por estar siempre presente a pesar de la distancia, tanto en lo profesional como en lo personal, por todos los consejos... y por hacerme un lugarcito en tu casa, en tu familia... ¡por eso eres la tía Ana!

Juanito Bravo, mi codirector. Por ser un apoyo fundamental en el desarrollo del trabajo experimental, por todos los permisos, que no fueron pocos... por su sencillez y humildad. Por buscar siempre el bienestar de todos los que con usted trabajamos.

Luisito Ramos, por toda tu apertura para el uso de las instalaciones del Laboratorio de Diagnóstico Vegetal de Agrocalidad. Y ahora como compañero de trabajo, por todo el apoyo y palabras de aliento siempre tan oportunas.

Gabi Vernaza, por tu ayuda para el estudio de la calidad panadera del pan de molde enriquecido con naranjilla, por compartir conmigo una parte de la tecnología de cereales.

Al grupo de trabajo en poscosecha en la UTE, mis queridos estudiantes, un placer haber compartido tantas horas de trabajo durante estos años: **Carlos Cevallos, Lorena Cuesta, Lorena Salvador, Andrea Túqueres, Gabriela Oña, Verito Monar, Rita Toro, Majo Guerrero, Cristian Guerrero, Javi Velásquez y Mauricio Mera**.

A mis amigos:

Majo.ar y Lau Lemoine, por ser un gran apoyo en todo momento, por sus palabras de aliento y su cariño para mí y mis pequeños. Por estar siempre pendientes a pesar de la distancia. ¡las quiero chicas! Gracias Majito por recibirme en tu casa y por el tour de cervecerías artesanales platenses (en 2016), por las charlas y paseos... ¡siguen quedando pendientes los gnoquis!

A todo el grupo de Vegetales del CIDCA (**Joaquín, Cristian, Facu, Luis, Carito, Maga, Lu**) que siempre me han hecho sentir como en casa. En especial a **Ariel Vicente**, muchísimas gracias por tu colaboración desinteresada y por tus siempre tan acertados aportes en la investigación.

Fernanda Mera, por cuidar de mi pequeño *Fusarium*... siempre seguiremos compartiendo el cariño por las tierras argentinas.

Carloteins, por haber iniciado juntas la investigación en poscosecha en la UTE, por superar tantos inconvenientes y siempre salir adelante... así lo seguiremos haciendo! Como siempre te digo: aunque seamos viejitas vamos a ser doctoras!

Nubia e Inesita, por el apoyo a pesar de la distancia. Las experiencias vividas nos han permitido comprender que la vida misma se encarga de ponernos en el lugar y con las personas que debemos estar, en el instante preciso.

a los CIALitos: **Cristian, Pati, Luisito, Carloteins y Michelle**. Por el apoyo incondicional y el aguante durante las largas horas de tecleo, por las bromas, los memes, los amenos almuerzos y las reuniones familiares. Gracias **Cris** por tu ayuda con el perfil fenólico y CG-EM.

Carlos González, por transmitirme tus conocimientos sobre el análisis de componentes principales y el uso del software Statistica.

Michelle Guijarro, estaré siempre infinitamente agradecida por tu ayuda. Gracias por estar todo el tiempo dispuesta al trabajo. Por el acolite en todo, por las largas y divertidas charlas, por enseñarme a ver la vida de manera diferente. ¡Hasta la victoria siempre compañera!

A mi familia:

Daniel, el mejor compañero de viaje que me dio la vida. Por alentarme a retomar el trabajo experimental, por el apoyo infinito y por tanta paciencia. Por soportar largas charlas "naranjilezcas", de frutos rojos y antioxidantes. Por llegar sin haberlo planeado y cambiar nuestras vidas por completo.

Martina Luana, mi pequeña compañera de aventuras, porque no hay mejor razón para ser el ejemplo de valentía, independencia y decisión... ya cuando crezcas entenderás porqué mamá quiso ser "doctora de naranjillas"... gracias por acompañarme y hacerme feliz viéndote disfrutar cómo se congelan las muestras en "nícógeno líquido".

Joaquín Nicolás, aunque a tu corta edad y sin entenderlo bien, eres el amor hecho persona. Tu sonrisa me anima como nada en el mundo.

Gonzalo y Zoilina (los abuelos Lalos), por el apoyo de toda la vida, por todos los viajes y madrugadas a buscar fruta y por seguir siendo el mejor ejemplo de trabajo, solidaridad, altruismo y amor al país. A ustedes, por nunca hacer faltar en la mesa familiar (desde que tengo memoria), un buen jugo de naranjilla fresca.

Paul, Lore, Mati, pequeñit@ en camino y la abuela Ivón, por ser ese apoyo que siempre se necesita... son la mejor familia que se puede tener.

Vicky Cuvi, por siempre estar pendiente y apoyándome para continuar.

Jorge y Tere, mis suegros, gracias por el apoyo! Gracias Tere por cuidar de Joaquín mientras terminaba de escribir la tesis. ¡Ustedes son los mejores!

a la nana **Carmen, Dafne** y el pequeño **Saúl**. Por estar ahí Nana siempre pendiente como hace más de 25 años.

La Plata,

Diciembre, 2018

Índice General



Dedicatoria	I
Agradecimientos	II
Índice General	IV
Índice de Figuras	IX
Índice de Tablas	XV
Abreviaturas	XIX
Resumen	XXI
INTRODUCCIÓN GENERAL Y OBJETIVOS.....	-1-
1. NARANJILLA	-2-
1.1. Descripción	-2-
1.2. Clasificación taxonómica	-4-
1.3. Especies silvestres y variedades	-4-
1.4. Composición química y valor nutricional	-6-
1.5. Generalidades del cultivo	-7-
1.6. Producción y comercialización	-9-
1.7. Cosecha y manejo poscosecha	-11-
1.8. Problemas durante el manejo poscosecha	-12-
2. FISIOLÓGÍA POSCOSECHA	-15-
2.1. Grado de madurez	-15-
2.2. Respiración	-17-
2.3. Producción de etileno	-18-
2.3.1. Biosíntesis del etileno	-20-
2.3.3. Modo de acción	-21-
2.4. Fitohormonas	-22-
3. ALTERACIONES FISIOLÓGICAS DE LOS FRUTOS DURANTE LA POSCOSECHA	-23-
4. TECNOLOGÍAS POSCOSECHA	-26-
4.1. Uso de temperaturas	-26-
4.2. Uso de la radiación UV-C	-27-
4.2.1. Espectro ultravioleta	-27-
4.2.2. Efecto de la luz UV sobre los sistemas biológicos	-28-
4.2.3. Uso de la radiación UV-C en la industria de alimentos	-30-
4.2.4. Uso de la radiación UV-C para el tratamiento de frutas y vegetales	-31-
4.3. Uso de 1-metilciclopropeno (1-MCP)	-33-
4.3.1. Modo de acción	-34-
4.3.2. Respuesta fisiológica de las frutas frente al 1-MCP	-35-
4.3.3. Efecto del 1-MCP sobre desórdenes fisiológicos y patológicos	-37-
4.3.4. Combinación con otras tecnologías	-38-

5. RESPUESTAS DE TEJIDOS VEGETALES ASOCIADAS AL ESTRÉS BIÓTICO Y ABIÓTICO	-39-
5.1. Especies reactivas del oxígeno y estrés oxidativo	-39-
5.2. Compuestos fenólicos	-41-
6. PRODUCTOS DERIVADOS DE FRUTAS Y HORTALIZAS: INNOVACIÓN Y FUNCIONALIDAD.....	-45-
OBJETIVOS	-48-
1.2. OBJETIVO GENERAL	-48-
1.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	-48-
MATERIALES Y MÉTODOS	-49-
A. ENSAYOS EXPERIMENTALES	-50-
1. Ensayo Capítulo I: Caracterización de 3 variedades de naranjilla en 2 grados de madurez y durante el almacenamiento a temperatura ambiente	-50-
1.1. Material vegetal y diseño del experimento	-50-
2. Ensayo Capítulo II: Aplicación de radiación UV-C como tratamiento poscosecha en naranjilla (<i>Solanum quitoense</i> var. Baeza)	-51-
2.1. Material vegetal	-51-
2.2. Selección de la dosis óptima de radiación UV-C	-51-
2.3 Comportamiento poscosecha de naranjilla tratada con radiación UV-C	-51-
3. Ensayo Capítulo III: Aplicación del 1-MCP como tratamiento poscosecha en naranjilla (<i>Solanum quitoense</i> var. Baeza)	-52-
3.1. Material vegetal	-52-
3.2. Selección del tiempo óptimo de exposición al 1-MCP	-52-
3.3. Comportamiento poscosecha de naranjilla tratada con 1-MCP	-52-
4. Ensayo Capítulo IV: Respuestas inducidas en frutos de naranjilla por aplicación de tratamientos UV-C y 1-MCP que influyen sobre el control de <i>Fusarium</i>	-53-
4.1. Aislamiento e identificación de hongos filamentosos en naranjilla	-53-
4.1.1. Identificación morfológica	-53-
4.1.2. Identificación molecular	-53-
4.2. Pretratamiento con radiación UV-C y 1-MCP	-54-
4.2.1. Material vegetal y diseño del experimento	-54-
4.2.2. Inoculación artificial del hongo (<i>Fusarium</i>) en naranjilla	-54-
4.2.3. Evaluación del efecto de la aplicación de radiación UV-C y 1-MCP	-55-
5. Ensayo Capítulo V: Elaboración de pan de molde enriquecido con naranjilla	-55-
5.1. Material vegetal	-55-
5.2. Formulación y elaboración de pan de naranjilla	-55-
B. DETERMINACIONES ANALÍTICAS	-56-
1. Peso, volumen y densidad	-56-
2. Perímetro y longitud	-56-
3. Firmeza	-56-
4. Tasa respiratoria (TR)	-57-
5. Color	-57-
6. pH, acidez total (AT), sólidos solubles (SS) y <i>ratio</i>	-57-
7. Rendimiento de pulpa	-58-
8. Fenoles totales y capacidad antioxidante	-58-
8.1. Preparación de extractos	-58-
8.2. Determinación de fenoles totales	-58-
8.3. Determinación de la capacidad antioxidante por el radical ABTS	-58-
8.4. Determinación de la capacidad antioxidante por el radical DPPH	-59-

8.5. Determinación de la capacidad antioxidante mediante la metodología FRAP	-59-
9. Carotenoides totales	-59-
10. Materia seca	-60-
11. Pérdida de peso	-60-
12. Índice de deterioro (ID)	-60-
13. Producción de etileno	-61-
14. Análisis microbiológicos	-62-
15. Halo de infección	-62-
16. Análisis de la pared celular	-62-
16.1. Aislamiento (Residuo insoluble en alcohol - RIA-).....	-62-
16.2. Ácidos urónicos (AU)	-62-
16.3. Azúcares neutros (AN)	-63-
17. Perfil fenólico	-63-
17.1. Preparación de la muestra	-63-
17.2. Preparación del extracto	-63-
17.3. Determinación de perfil fenólico.....	-64-
18. Análisis del extracto etanólico de naranjilla por Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (CG-EM)	-64-
18.1 Preparación del extracto	-64-
18.2. Análisis por Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (CG-EM)	-64-
19. Determinaciones enzimáticas	-65-
19.1. Preparación del extracto para PPO y POX	-65-
19.2. Preparación del extracto para PAL	-65-
19.3. Medición de la actividad enzimática de PPO	-65-
19.4. Medición de la actividad enzimática de POX	-65-
19.5. Medición de la actividad enzimática de PAL	-66-
19.6. Determinación del contenido de proteínas de los extractos enzimáticos	-66-
20. Calidad panadera	-66-
20.1. Color de la corteza y miga	-66-
20.2. Humedad	-67-
20.3. Volumen específico	-67-
20.4. Alveolado de miga	-67-
20.5. Análisis de perfil de textura (TPA)	-68-
20.6. Análisis sensorial	-70-
21. Digestión <i>in vitro</i> y capacidad antioxidante	-71-
C. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	-72-
 CAPÍTULO I: EFECTO DEL GRADO DE MADUREZ SOBRE LA CALIDAD DE TRES VARIEDADES DE NARANJILLA (<i>Solanum quitoense</i> Lam)	-73-
I. INTRODUCCIÓN	-74-
I. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	-77-
I.1. Calidad de frutos de naranjilla con grado de madurez 3 y 5	-77-
I.1.1. Dimensiones y rendimiento de pulpa	-77-
I.1.2. Color	-79-
I.1.3. Propiedades fisicoquímicas	-80-
I.1.4. Firmeza	-81-
I.1.5. Tasa respiratoria (TR)	-82-
I.1.6. Compuestos y capacidad antioxidante	-83-

I.2. Calidad de frutos de naranjilla con grado de madurez 5 y almacenados a temperatura ambiente por 14 días	-86-
I.2.1. Dimensiones y rendimiento de pulpa	-86-
I.2.2. Color	-87-
I.2.3. Propiedades fisicoquímicas	-88-
I.2.4. Firmeza	-89-
I.2.5. Tasa respiratoria	-90-
I.2.6. Compuestos y capacidad antioxidante	-90-
I.3. Análisis de componentes principales (PCA)	-91-
I. CONCLUSIONES	-96-
CAPÍTULO II: APLICACION DE LA RADIACION UV-C COMO TRATAMIENTO POSCOSECHA EN NARANJILLA (<i>Solanum quitoense</i> Lam)	
II. INTRODUCCIÓN	-99-
II. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	-102-
II.1. Selección de tiempo de almacenamiento y dosis efectiva	-102-
II.2. Efecto del tratamiento UV-C seleccionado sobre la calidad poscosecha de naranjilla	-105-
II.2.1. Pérdida de peso e índice de deterioro	-105-
II.2.2. Producción de etileno, tasa de respiración y firmeza	-108-
II.2.3. pH, acidez total titulable, sólidos solubles y <i>ratio</i>	-110-
II.2.4. Color y área de manchas	-112-
II.2.5. Análisis microbiológicos	-113-
II.2.6. Capacidad antioxidante, compuestos fenólicos y carotenoides totales	-115-
II.3. Análisis de compuestos fenólicos por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).....	-118-
II.4. Análisis del extracto etanólico de naranjilla por cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (CG-EM)	-123-
II.5. Análisis de componentes principales (PCA).....	-127-
II. CONCLUSIONES	-132-
CAPÍTULO III: APLICACION DE 1-MCP COMO TRATAMIENTO POSCOSECHA EN NARANJILLA (<i>Solanum quitoense</i> Lam)	
III. INTRODUCCIÓN	-134-
III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	-136-
III.1. Selección de tiempo de exposición a 0,5 µL/L de 1-MCP y tiempo de almacenamiento de naranjilla	-136-
III.2. Calidad poscosecha de naranjilla tratada con 1-MCP (0,5 µL/L) durante 8 h y posterior almacenamiento refrigerado durante 21 días	-139-
III.2.1. Pérdida de peso e índice de deterioro	-139-
III.2.2. Producción de etileno, tasa de respiración y firmeza	-141-
III.2.3. pH, acidez total titulable, sólidos solubles y <i>ratio</i>	-143-
III.2.4. Color y área de manchas	-144-
III.2.5. Análisis microbiológicos	-146-
III.2.6. Capacidad antioxidante, compuestos fenólicos y carotenoides totales	-148-
III.3. Análisis de compuestos fenólicos por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) ...	-153-
III.4. Análisis del extracto etanólico de naranjilla por cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (CG-EM)	-157-
III.5. Análisis de componentes principales (PCA).....	-160-
III. CONCLUSIONES	-164-

CAPÍTULO IV: RESPUESTAS INDUCIDAS EN FRUTOS DE NARANJILLA POR APLICACIÓN DE TRATAMIENTO UV-C Y 1-MCP QUE INFLUYEN SOBRE EL CONTROL DE <i>Fusarium</i>	-166-
IV. INTRODUCCIÓN	-167-
IV.a. Tecnologías poscosecha y estrés biótico y abiótico	-169-
IV.b. Pérdidas poscosecha producidas por <i>Fusarium</i>	-170-
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	-172-
IV.1. Aislamiento e identificación de hongos filamentosos en naranjilla	-172-
IV.2. Efecto del pretratamiento con radiación UV-C y 1-MCP sobre el crecimiento de <i>Fusarium polyphialidicum</i> inoculado en naranjilla	-175-
IV.3. Efecto del pretratamiento con radiación UV-C y 1-MCP sobre residuo insoluble en alcohol (RIA) y el contenido de ácidos urónicos (AU) y azúcares neutros (AN)	-181-
IV.4. Efecto del pretratamiento con radiación UV-C y 1-MCP sobre el contenido de fenoles totales (FT) y actividad enzimática de fenilalanina-amonio-liasa (PAL), polifenol oxidasa (PPO) y peroxidasa (POX) en naranjilla inoculada con <i>Fusarium polyphialidicum</i>	-184-
IV.5. Análisis de componentes principales (PCA)	-190-
IV. CONCLUSIONES	-194-
CAPÍTULO V: ELABORACIÓN DE PAN DE MOLDE ENRIQUECIDO CON NARANJILLA	-196-
VI. INTRODUCCIÓN	-197-
V.a. Enriquecimiento de productos panificados.....	-197-
V.b. Biodisponibilidad y bioaccesibilidad	-199-
V.c. Bioaccesibilidad de nutrientes	-199-
V.c.1. Bioaccesibilidad de la capacidad antioxidante	-200-
V.c.2. Efecto de la matriz en la bioaccesibilidad de compuestos fenólicos.....	-201-
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	-202-
V.1. Calidad panadera	-202-
V.1.1. Color de corteza y miga	-202-
V.1.2. Humedad y volumen específico.....	-204-
V.1.3. Alveolado de miga	-205-
V.1.4. Análisis de perfil de textura (TPA)	-206-
V.2. Análisis sensorial	-208-
V.3. Digestión <i>in vitro</i> y capacidad antioxidante	-210-
V. CONCLUSIONES	-213-
CONCLUSIONES FINALES	-215-
BIBLIOGRAFÍA	-219-

Índice de Figuras



Figura 1 Naranjilla (<i>Solanum quitoense</i> Lam.): (a) planta, (b) hojas, (c) flores, (d) frutos verdes, (e) frutos maduros y (f) semillas	-3-
Figura 2 Especies silvestres relacionadas con la naranjilla: (a) <i>Solanum sessiflorum</i> -cocona-, (b) <i>Solanum hispidum</i> -cujacu- y (c) <i>Solanum hirtum</i> -espinuda-	-4-
Figura 3 Variedades de naranjilla <i>Solanum quitoense</i> : (a) agria, (b) Baeza y (c) INIAP Quitoense-2009	-6-
Figura 4 Zonas de producción de naranjilla en el Ecuador (Fuente: MAGAP, 2011)	-9-
Figura 5 Formas de comercialización de naranjilla a nivel local: (a y b) mercados populares; (c) supermercados; (d) naranjilla empacada y (e) pulpa de naranjilla congelada	-10-
Figura 6 Cosecha, clasificación y empaque de naranjilla	-11-
Figura 7 Grados de madurez de la naranjilla (NTE INEN 2 303, 2009)	-16-
Figura 8 Patrón de respiración, crecimiento y producción de etileno para frutas climatéricas y no climatéricas (Fuente: Wills et al., 1999)	-19-
Figura 9 Mecanismo de biosíntesis del etileno en plantas	-21-
Figura 10 Mecanismo de acción del etileno	-22-
Figura 11 Alteraciones fisiológicas de naranjilla (a) recién cosechada, respecto de aquellos frutos que en la poscosecha presentan: (b) ablandamiento y pérdida de turgencia; (c) desarrollo visible de mohos y (d) síntomas de daño por frío	-25-
Figura 12 Dimerización fotoquímica de la timina inducida por la radiación UV	-29-
Figura 13 Fórmula química y presentación comercial del 1-MCP (Ethyl Bloc y Smart Fresh) https://www.agrofresh.com/technologies/	-33-
Figura 14 Representación esquemática de diferentes procesos metabólicos y antioxidantes (Fuente: Trippi et al., 1989)	-40-
Figura 15 Estructura del ácido benzoico, ácido cinámico, ácido clorogénico y sus derivados	-43-

Figura 16 Biosíntesis de compuestos fenólicos	-44-
Figura 17 Secuencia de oligonucleótidos de primers usados para PCR para la identificación del hongo filamentoso	-54-
Figura 18 Escala de calificación del índice de deterioro (a) marchitez en el cáliz; (b) daños físicos y (c) turgencia	-61-
Figura 19 Secuencia de análisis de alveolado de miga con imagen binarizada para pan realizado con programa Image J	-67-
Figura 20 Curva general de perfil de textura realizada en un texturómetro. (Fuente: Correa, 2012)	-68-
Figura 21 Planilla utilizada en el análisis de aceptabilidad del pan de naranjilla	-70-
Figura I.1 Apariencia de los frutos de naranjilla de las variedades INIAP Quitoense 2009, Baeza y Agria en sus grados de madurez 3 y 5	-77-
Figura I.2 Firmeza de los frutos de naranjilla de las variedades INIAP Quitoense 2009, Baeza y Agria en sus grados de madurez 3 y 5. Letras distintas indican diferencias de acuerdo al test LSD de Fisher ($LSD = 0,73$) con un nivel de significancia de $P < 0,05$	-82-
Figura I.3 Tasa respiratoria (TR) de los frutos de naranjilla de las variedades INIAP Quitoense 2009, Baeza y Agria en sus grados de madurez 3 y 5. Letras distintas indican diferencias de acuerdo al test LSD de Fisher ($LSD = 0,581$) con un nivel de significancia de $P < 0,05$	-83-
Figura I.4 Contenido de (a) fenoles totales y capacidad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC) ante el radical (b) $ABTS^{\bullet+}$ y (c) $DPPH^{\bullet}$ de los frutos de naranjilla de las variedades INIAP Quitoense 2009, Baeza y Agria en sus grados de madurez 3 y 5. Letras distintas indican diferencias de acuerdo al test LSD de Fisher ($LSD_{FT} = 32,5$; $LSD_{TEAC\ DPPH} = 0,13$; $LSD_{TEAC\ ABTS} = 0,12$;) con un nivel de significancia de $P < 0,05$	-85-
Figura I.5 Apariencia de los frutos de naranjilla de las variedades INIAP Quitoense 2009, Baeza y Agria en grado de madurez 5 y luego de 14 días de almacenamiento a temperatura ambiente (5+almac)	-86-
Figura I.6 Mapa de similitud del análisis de componentes principales (PCA) de los dos primeros componentes principales que muestra la correlación entre las medidas fisicoquímicas y de antioxidantes de naranjilla de las variedades INIAP Quitoense 2009, Baeza y Agria	-94-
Figura I.7 Análisis de componentes principales (PCA) de los dos principales componentes que muestran correlación entre las medidas fisicoquímicas y de antioxidantes de naranjilla de las variedades INIAP Quitoense 2009 -(azul), Baeza (verde) y Agria (fucsia) con grado de madurez 3(●), 5 (o) y 5+almac (*)	-95-
Figura II. 1 (a) Pérdida de peso e (b) índice de deterioro en frutos de naranjilla control y tratados	-103-

con radiación UV-C (4,5, 9,5 y 12,5 kJ/m²) almacenados a 4°C durante 28 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de P < 0,05

Figura II.2 Apariencia de frutos de naranjilla control y tratados con radiación UV-C (4,5, 9,5 y 12,5 kJ/m²) almacenados a 4°C durante 28 días -104-

Figura II.3 (a) Apariencia, (b) pérdida de peso e (c) índice de deterioro en frutos de naranjilla control y tratados con radiación UV-C (9,5 kJ/m²) almacenados a 4°C durante 21 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de P < 0,05 -107-

Figura II.4 (a) Producción de etileno, (b) tasa de respiración y (c) firmeza de frutos de naranjilla control y tratados con radiación UV-C (9,5 kJ/m²) almacenados a 4°C durante 21 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de P < 0,05 -109-

Figura II.5 Población de (a) aerobios mesófilos totales y (b) mohos y levaduras en frutos de naranjilla control y tratados con radiación UV-C (9,5 kJ/m²) almacenados a 4°C durante 21 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de P < 0,05 -114-

Figura II.6 Cromatograma HPLC-DAD de extractos metanólicos de muestras de naranjilla entera (a) control y (b) tratadas con radiación UV-C (9,5 kJ/m²) correspondiente al inicio del experimento (día 0). Los números de los picos se correlacionan con los detallados en la **Tabla II.3** -119-

Figura II.7 Variación de la concentración de los picos cromatográficos de mayor concentración (expresados como mg equivalentes de ácido clorogénico/100 g tej. seco): (a) P3, ácido 5-O-cafeoilquínico, (b) P5, N¹,N⁴ o N⁴,N⁸-bis(dihidrocafeoil) espermidina y (c) P7, N¹,N⁴,N⁸-tris(dihidrocafeoil) espermidina. Identificados según Tabla II.3) determinados en el extracto metanólico de naranjilla control (C) y tratada (9,5 kJ/m²) (UV-C) almacenada en refrigeración (4°C) durante 21 días -120-

Figura II.8 Variación de la concentración de los picos cromatográficos de menor concentración (expresados como mg equivalentes de ácido clorogénico/100 g tej. seco): (a) P1, No identificado, (b) P2, hexósido de N¹,N⁴ o N⁴,N⁸-bis(dihidrocafeoil) espermidina, (c) P4, ácido 4-O-cafeoilquínico y (d) P6, dihexósido de kaempferol. Identificados según Tabla II.3) determinados en el extracto metanólico de naranjilla control (C) y tratada (9,5 kJ/m²) (UV-C) almacenada en refrigeración (4°C) durante 21 días -121-

Figura II.9 Cromatograma CG-EM de extractos etanólicos de naranjilla (A) control y (B) tratada (9,5 kJ/m²) correspondientes al día 7 de almacenamiento refrigerado (4°C) -124-

Figura II.10 Áreas de picos cromatográficos: P1 (ác. hexanoico), P2 (ác. 6-octanoico), P3 (ác. (Z,Z)-9,12-octadecadienoico), P4 (ác. Z,Z,Z)-9,12,15-octadecatrienoico y P5 (α-tocoferol) extraídos con etanol e identificados por CG-EM en naranjilla control y tratada (9,5 kJ/m²) almacenada en refrigeración (4°C) durante 21 días -126-

- Figura II.11** Gráfica de doble proyección de los componentes principales que muestran la correlación aplicada a 21 atributos de calidad poscosecha de naranjilla control y tratada con radiación UV-C (9,5 kJ/m²) almacenada en refrigeración (4°C) durante 21 días -129-
- Figura II.12** Análisis de componentes principales (PCA) de los dos principales componentes que muestran correlación aplicada a 21 atributos de calidad poscosecha y contenido de compuestos antioxidantes de naranjilla control y tratada con radiación UV-C (9,5 kJ/m²) almacenada en refrigeración (4°C) durante 21 días -131-
- Figura III.1** Apariencia de frutos de naranjilla control y expuestos durante 8, 12 y 24 horas a 0,5 µL/L 1-MCP y almacenados a 4°C durante 28 días -138-
- Figura III.2** (a) Pérdida de peso, (b) índice de deterioro y (c) apariencia de frutos de naranjilla control y tratados con 1-MCP (0,5 µL/L - 8h) almacenados a 4°C durante 21 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$. -140-
- Figura III.3** Población de (a) aerobios mesófilos totales y (b) mohos y levaduras en frutos de naranjilla control y tratados con 1-MCP (0,5 µL/L - 8h) almacenados a 4°C durante 21 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$ -147-
- Figura III.4** Contenido de (a) Fenoles totales y (b) carotenoides totales en frutos de naranjilla control y tratados con 1-MCP (0,5 µL/L - 8h) almacenados a 4°C durante 21 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$ -149-
- Figura III.5** Capacidad antioxidante determinada por los métodos (a) DPPH, (b) ABTS y (c) FRAP en frutos de naranjilla control y tratados con 1-MCP (0,5 µL/L - 8h) almacenados a 4°C durante 21 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$ -152-
- Figura III.6** Cromatograma HPLC-DAD de extractos metanólicos de muestras de naranjilla entera (a) control y (b) tratados con 1-MCP (0,5 µL/L - 8h) almacenados a 4°C durante 21 días correspondiente al inicio del experimento (día 0) -153-
- Figura III.7** Variación de la concentración de los picos cromatográficos de mayor concentración (expresados como mg equivalentes de ác. clorogénico/100 g tej. seco): (a) P3, ácido 5-O-cafeoilquínico, (b) P5, N¹,N⁴ o N⁴,N⁸-bis(dihidrocafeoil) espermidina y (c) N¹,N⁴,N⁸-tris(dihidrocafeoil) espermidina . Identificados según Tabla II.3) determinados en el extracto metanólico de naranjilla control (C) y tratada con 1-MCP (0,5 µL/L - 8h) almacenados a 4°C durante 21 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$ -155-
- Figura III.8** Variación de la concentración de los picos cromatográficos de menor concentración (expresados como mg equivalentes de ác. clorogénico/100 g tej. seco): (a) P1, No identificado, (b) P2, hexósido de N¹,N⁴ o N⁴,N⁸-bis(dihidrocafeoil) espermidina, (c) P4, ácido 4-O-

cafeoilquínico y (d) P6, dihexósido de kaempferol. Identificados según Tabla II.3) determinados en el extracto metanólico de naranjilla control (C) y tratada con 1-MCP (0,5 $\mu\text{L/L}$ - 8h) almacenados a 4°C durante 21 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$

Figura III.9 Cromatograma GC-MS de muestras de naranjilla (a) control y (b) tratada con 1-MCP (0,5 $\mu\text{L/L}$ - 8h) correspondientes al día 7 de almacenamiento refrigerado (4°C) -157-

Figura III.10 Variación de la concentración de los picos cromatográficos identificados por CG-EM en naranjilla control y tratada con 1-MCP (0,5 $\mu\text{L/L}$ - 8h) almacenada en refrigeración (4°C) durante 21 días -159-

Figura III.11 Gráfica de doble proyección (*Correlation loadings plot*) del análisis de componentes principales (PCA) de los dos primeros componentes principales que muestran la correlación aplicada a 21 atributos de calidad poscosecha de frutos de naranjilla control y tratada con 1-MCP (0,5 $\mu\text{L/L}$ - 8h) almacenados durante 21 días a 4°C -162-

Figura III.12 Análisis de componentes principales (PCA) de los dos principales componentes que muestran la correlación (*loadings and scores*) aplicada a 21 atributos de calidad poscosecha y contenido de compuestos antioxidantes de frutos de naranjilla control y tratada con 1-MCP (0,5 $\mu\text{L/L}$ - 8h) almacenados durante 21 días a 4°C -163-

Figura IV.1 Rol de las hormonas de las plantas como mecanismo de regulación de la interacción entre el estrés biótico y abiótico (Fuente: Atkinson y Urwin, 2012) -167-

Figura IV.2 *Fusarium polyphialidicum*: (a) crecimiento en frutos naranjilla; (b) colonia en PDA -arriba- y agar Sabouraud -abajo- luego de 5 días de incubación a 25°C; (c) fialides - flecha roja-, conidióforos y macroconidios x100 -arriba- y clamidosporas -abajo- en tinción con azul de lactofenol y (d) conidióforos y macroconidios x400 (microscopía confocal) -173-

Figura IV.3 Árbol genético de la especie *Fusarium* resultado del análisis de genes RPB2 y TEF1. La especie *polyphialidicum* se indica con flecha roja. (Fuente: Al-Hatmi et al. 2016) -174-

Figura IV.4 Apariencia externa e interna de frutos control (sin inoculación), frutos inoculados con *Fusarium polyphialidicum*, frutos pretratados con radiación UV-C (9,5 KJ/m^2) y 1-MCP (0,5 $\mu\text{L/L}$ - 8h) y posterior inoculación y almacenados a temperatura ambiente por 6 y 12 días -176-

Figura IV.5 Halo de infección (a y c) externo y (b y d) externo en frutos control (sin inoculación), frutos inoculados con *Fusarium polyphialidicum*, frutos pretratados con radiación UV-C (9,5 KJ/m^2) y 1-MCP (0,5 $\mu\text{L/L}$ - 8h) e inoculados y almacenados a temperatura ambiente por 6 y 12 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$. -178-

Figura IV.6 (a) Pérdida de peso y (b) firmeza de frutos control (sin inoculación), frutos inoculados, frutos tratados con radiación UV-C (9,5 KJ/m^2) y 1-MCP (0,5 $\mu\text{L/L}$ - 8h) y posterior inoculación con *Fusarium polyphialidicum*, y almacenados a temperatura ambiente por 6 y 12 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$ -180-

- Figura IV.7** Contenido de fenoles y actividad enzimática de fenilalanina amonía-liasa (PAL) en frutos control (sin inoculación), frutos inoculados, frutos pretratados con radiación UV-C (9,5 kJ/m²) y 1-MCP (0,5 µL/L - 8h) y posterior inoculación con *Fusarium polyphialidicum*, y almacenados a temperatura ambiente por 6 y 12 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de P < 0,05 -185-
- Figura IV.8** Correlación entre el contenido de fenoles y actividad enzimática de fenilalanina amonía-liasa (PAL) en frutos inoculados, frutos pretratados con radiación UV-C (9,5 kJ/m²) y 1-MCP (0,5 µL/L - 8h), y almacenados a temperatura ambiente por 6 y 12 días r= coeficiente de correlación de Pearson -187-
- Figura IV.9** Actividad específica de las enzimas (a) polifenol oxidasa - PPO- y (b) peroxidasa -POX- en frutos control (sin inoculación), frutos inoculados, frutos pretratados con radiación UV-C (9,5 kJ/m²) y 1-MCP (0,5 µL/L - 8h) y posterior inoculación con *Fusarium polyphialidicum*, y almacenados a temperatura ambiente por 6 y 12 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de P < 0,05 -188-
- Figura IV.10** Mapa de similitud del análisis de componentes principales (PCA) de los dos primeros componentes principales que muestra la correlación entre la pérdida de peso, halo de infección interno y externo, firmeza, contenido de fenoles totales y proteínas, residuo insoluble en alcohol (RIA), azúcares neutros (AN), ácidos urónicos (AU) y actividad enzimática de PPO, PPO y POX en frutos inoculados y pretratados con radiación UV-C (9,5 kJ/m²) y 1-MCP (0,5 µL/L - 8h) -192-
- Figura IV.11** Análisis de componentes principales (PCA) de los dos primeros componentes principales que muestra la correlación entre las características físicoquímicas (pérdida de peso, halo de infección interno y externo, firmeza, FT, RIA, AN, AU) y actividad enzimática (PAL, PPO y POX) y el tiempo post-inoculación (día 0 -o-; día 6 -●- día 12 -*-) en frutos control (azul), inoculados (rojo) y frutos pretratados con radiación UV-C (9,5 kJ/m² -verde-) y 1-MCP (0,5 µL/L - 8h -morado-) y posterior inoculación -194-
- Figura V.1** Apariencia externa e interna de (a) pan sin adición de naranjilla -control- y (b) pan enriquecido con naranjilla -202-
- Figura V.2** Alveolado de la miga de pan sin adición de naranjilla -control- y pan enriquecido con puré de naranjilla -205-
- Figura V.3** Análisis de perfil de textura (TPA) de pan sin adición de naranjilla -control- y pan enriquecido con naranjilla -207-
- Figura V.4** Análisis sensorial (prueba de aceptabilidad) de pan enriquecido con puré de naranjilla -209-

Índice de Tablas



Tabla 1 Clasificación taxonómica de la naranjilla (Fuente: Tipanluisa, 2011)	-4-
Tabla 2 Composición química y valor nutricional de la naranjilla (Fuente: Brito et al., 2011)	-7-
Tabla 3 Problemas poscosecha de la naranjilla	-13-
Tabla 4 Enfermedades poscosecha de naranjilla	-14-
Tabla 5 Parámetros de textura que se calculan con los datos obtenidos en las corridas de análisis de perfil de textura mostrados en Figura 20	-69-
Tabla I.1 Peso, volumen, perímetro, alto, densidad y rendimiento de pulpa de naranjilla de las variedades INIAP Quitoense 2009, Baeza y Agria en sus grados de madurez 3 y 5. Letras distintas indican diferencias de acuerdo al test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$	-78-
Tabla I.2 Parámetros de color: L^* (luminosidad), a^* (verde-rojo) y b^* (azul-amarillo) de naranjilla de las variedades INIAP Quitoense 2009, Baeza y Agria en sus grados de madurez 3 y 5. Letras distintas indican diferencias de acuerdo al test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$	-80-
Tabla I.3 Propiedades fisicoquímicas: pH, acidez titulable, sólidos solubles, <i>ratio</i> de naranjilla de las variedades INIAP Quitoense 2009, Baeza y Agria en sus grados de madurez 3 y 5. Letras distintas indican diferencias de acuerdo al test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$	-81-
Tabla I.4 Peso, volumen, densidad, perímetro, longitud y rendimiento de pulpa de naranjilla de las variedades INIAP Quitoense 2009, Baeza y Agria con grado de madurez 5 luego de 14 días de almacenamiento a temperatura ambiente (5+almac) y su variación porcentual respecto del fruto cosechado con grado de madurez 5. Letras distintas indican diferencias de acuerdo al test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$	-87-
Tabla I.5 Parámetros de color: L^* (luminosidad), a^* (rojo-verde) y b^* (azul-amarillo) de naranjilla de las variedades INIAP Quitoense 2009, Baeza y Agria con grado de madurez 5 luego de 14 días de almacenamiento a temperatura ambiente (5+almac) y su variación porcentual respecto del fruto cosechado con grado de madurez 5. Letras distintas indican diferencias de acuerdo al test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$	-88-
Tabla I.6 Propiedades fisicoquímicas: pH, acidez titulable, sólidos solubles, <i>ratio</i> de naranjilla de las variedades INIAP Quitoense 2009, Baeza y Agria con grado de madurez 5 luego de 14 días de almacenamiento a temperatura ambiente (5+almac) y su variación porcentual respecto del fruto cosechado con grado de madurez 5. Letras distintas indican diferencias de acuerdo al test LSD	-89-

de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$

Tabla I.7 Tasa respiratoria y firmeza de naranjilla de las variedades INIAP Quitoense 2009, Baeza y Agria con grado de madurez 5 luego de 14 días de almacenamiento a temperatura ambiente (5+almac) y su variación porcentual respecto del fruto cosechado con grado de madurez 5. Letras distintas indican diferencias de acuerdo al test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$ -90-

Tabla I.8 Contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC) ante el radical $ABTS^{\bullet+}$ y $DPPH^{\bullet}$ de naranjilla de las variedades INIAP Quitoense 2009, Baeza y Agria con grado de madurez 5 luego de 14 días de almacenamiento a temperatura ambiente (5+almac) y su variación porcentual respecto del fruto cosechado con grado de madurez 5. Letras distintas indican diferencias de acuerdo al test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$ -91-

Tabla I.9 Valor propio, varianza total y acumulada de las variables utilizadas para la determinación de los componentes principales con base a la matriz de correlación aplicada a 19 características fisicoquímicas y antioxidantes de naranjilla -92-

Tabla I.10 Varianzas de los cuatro componentes (factores) determinados por PCA con base a la matriz de correlación aplicada a 19 características fisicoquímicas y antioxidantes de naranjilla -93-

Tabla II.1 pH, AT, SS y *ratio* en frutos de naranjilla control y tratados con radiación UV-C ($9,5 \text{ kJ/m}^2$) almacenados a 4°C durante 21 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$ -111-

Tabla II.2 Parámetros de color (L^* , b^* y Cr^*) y área de manchas superficiales en frutos de naranjilla control y tratados con radiación UV-C ($9,5 \text{ kJ/m}^2$) almacenados a 4°C durante 21 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$ -112-

Tabla II.3 Capacidad antioxidante equivalente a trolox (mediante las técnicas que emplean DPPH, ABTS y FRAP) y contenido de fenoles totales y carotenoides totales en frutos de naranjilla control y tratados con radiación UV-C ($9,5 \text{ kJ/m}^2$) almacenados a 4°C durante 21 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$ -117-

Tabla II.4 Compuestos fenólicos por HPLC-DAD de extracto de naranjilla. Identificación tentativa por comparación bibliográfica. Se detalla aquellos con mayor concentración en la muestra (✓) -119-

Tabla II.5 Identificación de compuestos por CG-EM en naranjilla control y tratada ($9,5 \text{ kJ/m}^2$) almacenada en refrigeración (4°C) durante 21 días -124-

Tabla II.6 Valor propio, varianza total y acumulada de las variables utilizadas para la determinación de los componentes principales en base a la matriz de correlación aplicada a 20 atributos de calidad poscosecha de naranjilla y el tratamiento con radiación UV-C ($9,5 \text{ kJ/m}^2$) y posterior almacenamiento en refrigeración (4°C) durante 21 días. (Valor resaltado con rojo: varianza acumulada para 4 PC) -127-

Tabla II.7 Varianzas de los cuatro componentes (factores) determinados por PCA en base a la -128-

matriz de correlación aplicada a 21 atributos de calidad poscosecha de naranjilla control y tratada con radiación UV-C (9,5 kJ/m²) almacenada en refrigeración (4°C) durante 21 días (valor resaltado en rojo: coordenadas factoriales para cada variable)

Tabla III.1 Índice de deterioro y pérdida de peso en frutos de naranjilla control y expuestos durante 8, 12 y 24 horas a 0,5 µL/L 1-MCP y almacenados a 4°C durante 28 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$ -137-

Tabla III.2 Producción de etileno, tasa de respiración (TR) y firmeza de frutos de naranjilla control y tratados con 1-MCP (0,5 µL/L - 8h) almacenados a 4°C durante 21 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$ -142-

Tabla III.3 pH, sólidos solubles (SS), acidez total titulable (AT) y relación SS/AT (*ratio*) en frutos de naranjilla control y tratados con 1-MCP (0,5 µL/L - 8h) almacenados a 4°C durante 21 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$ -143-

Tabla III.4 Angulo Hue (°), luminosidad (L*), cromaticidad (Cr*) y área de manchas en frutos de naranjilla control y tratados con 1-MCP (0,5 µL/L - 8h) almacenados a 4°C durante 21 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$ -145-

Tabla III.5 Compuestos fenólicos por HPLC-DAD de extracto de naranjilla (metanol CH₃OH/H₂O al 70%). -154-

Tabla III.6 Identificación de compuestos por CG-EM en naranjilla control y tratada con 1-MCP (0,5 µL/L - 8h) almacenada en refrigeración (4°C) durante 21 días -158-

Tabla III.7 Valor propio, varianza total y acumulada de las variables utilizadas para la determinación de los componentes principales en base a la matriz de correlación aplicada a 21 atributos de calidad poscosecha de frutos de naranjilla control y tratada con 1-MCP (0,5 µL/L - 8h) almacenados durante 21 días a 4°C -160-

Tabla III.8 Varianzas de los cuatro componentes (factores) determinados por PCA en base a la matriz de correlación aplicada a 21 atributos de calidad poscosecha de frutos de naranjilla control y tratada con 1-MCP (0,5 µL/L - 8h) almacenados durante 21 días a 4°C -161-

Tabla IV.1 Aislamiento de pared celular (residuo insoluble en alcohol -RIA-) y el contenido de ácidos urónicos y azúcares neutros totales en frutos control (sin inocular), inoculados y frutos pretratados con radiación UV-C (9,5 kJ/m²) o 1-MCP (0,5 µL/L - 8h) y almacenados a temperatura ambiente por 6 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$ -182-

Tabla IV.2 Correlación entre el contenido de fenoles y actividad enzimática de fenilalanina amonioliasa (PAL,) polifenol oxidasa (PPO) y peroxidasa (POX) en frutos inoculados y pretratados con radiación UV-C (9,5 kJ/m²) y 1-MCP (0,5 µL/L - 8h), y almacenados a temperatura ambiente por 6 y 12 días -189-

Tabla IV.3 Valor propio, varianza total y acumulada de las variables utilizadas para la determinación de los componentes principales. (Valor resaltado con rojo: varianza acumulada para 3 PC)	-191-
Tabla IV.4 Varianzas de los tres componentes (factores) determinados por PCA (valor resaltado en rojo: coordenadas factoriales para cada variable)	-191-
Tabla V.1 Parámetros de perfil de textura (TPA) (Fuente: Hernandez Alarcón, 2005)	-198-
Tabla V.2 Parámetros de color: L*=luminosidad (escala: 0=negro, 100=blanco), a* (escala: -a=verde, +a=rojo) y b* (escala: -b=azul, +b=amarillo) e índice de browning (IB) de corteza y miga de pan control y pan de naranjilla	-203-
Tabla V.3 Humedad y volumen específico de pan control y pan enriquecido con naranjilla	-204-
Tabla V.4 Análisis del alveolado de miga de pan sin adición de naranjilla -control- y pan enriquecido con puré de naranjilla	-206-
Tabla V.5 Análisis de perfil de textura (TPA) de pan sin adición de naranjilla -control- y pan enriquecido con puré de naranjilla	-207-
Tabla V.6 Contenido de fenoles totales (FT), carotenoides totales (CT) y capacidad antioxidante total (TEAC) en el pan o producto fresco y en cada fracción (masticación, gástrica y duodenal) durante la digestión <i>in vitro</i> de pan control y pan enriquecido con naranjilla. Fracción bioaccesible (fracción dializada y soluble luego de etapa duodenal) y bioaccesibilidad porcentual en relación al pan o producto fresco	-211-

Abreviaturas



1-MCP	1-metilciclopropeno
ABTS	ABTS ⁺ [2,2 'azinobis-(ácido3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico]
ACC	Ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico
ACO	ACCOxidasa
ACS	ACCsintasa
AN	Ázúcares neutros
AOA	Ácido amino oxiacético
APX	Ascorbato peroxidasa
AT	Acidez total titulable
AU	Ácidos urónicos
AVG	Aminoetoxivinilglicina
CAT	Catalasa
CG-EM	Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas
CT	Carotenoides totales
dda	Días después de la antesis
DPF	Daño por frío
dpi	Días post-inoculación
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidracilo
EROs	Especies reactivas de oxígeno
FRAP	Capacidad de reducción del hierro
FT	Fenoles totales
GPX	Glutación peroxidasa
ID	Índice de deterioro
INIAP	Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias
LSD	Diferencia cuadrática mínima
M+L	Mohos y levaduras

MCP	Muerte celular programada
MTA	5'-metiltioadenosina
PAL	Fenilalanina-amonio-liasa
PCA	Análisis de componentes principales
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PDA	Agar patata dextrosa
POX	Peroxidasa
PPO	Polifenol oxidasa
RIA	Residuo insoluble el alcohol
SAM	S-adenosil metionina
SOD	Superoxido dismutasa
SS	Sólidos solubles
TPA	Análisis de perfil de textura
TPTZ	2, 4, 6 tripiridil-s triazina
TR	Tasa respiratoria
UEA	Unidad actividad enzimática
UV-C	Radiación ultravioleta C

Resumen



RESUMEN

La naranjilla es una fruta exótica originaria de los sotobosques subtropicales de los Andes de Ecuador; crece principalmente en los flancos de la cordillera andina en sitios con buena humedad; y de gran importancia económica para el Ecuador. Durante la maduración pierde el color verde y gana tonalidades amarillo-naranja-rojo. Es climatérica, con buena acidez, sensible al daño por frío a temperaturas $<7^{\circ}\text{C}$ y con baja vida útil poscosecha, lo que genera cuantiosas pérdidas al sector productivo. Generalmente, se la consume en fresco o es utilizada para la elaboración de refrescos, helados, dulces y gelatinas.

El objetivo del presente trabajo de investigación fue evaluar la calidad poscosecha de naranjilla (*Solanum quitoense* Lam) y alternativas tecnológicas para retrasar su deterioro. También, elaborar un producto panificado enriquecido con naranjilla.

El trabajo se dividió en cinco fases. En la *primera*, se cosecharon frutos de naranjilla de tres variedades (INIAP Quitoense 2009, Baeza y Agria) en grados de madurez 3 y 5, estos últimos se almacenaron a temperatura ambiente durante 14 días (5+almac) con el fin de simular las condiciones normales de comercialización. Las características fisicoquímicas y antioxidantes varían según el grado de madurez y la variedad, al igual que por efecto del tiempo de almacenamiento. La variedad *Agria* presentó las mejores características antioxidantes seguida de Baeza e INIAP. Los frutos almacenados a temperatura ambiente 5+almac se caracterizaron por la disminución del rendimiento de pulpa y firmeza; no obstante, presentaron los mayores valores de compuestos fenólicos totales (FT) y capacidad antioxidante (TEAC) respecto a los grados de madurez 3 y 5. La variedad *INIAP* se caracterizó por un mayor tamaño y rendimiento de pulpa que la hace propicia para su utilización en la industria. La variedad *Baeza* se caracterizó por su tamaño intermedio y buena firmeza (favorables para su manipulación y transporte) además de un elevado contenido de FT y TEAC, por lo que fue seleccionada para la aplicación de tecnologías poscosecha. En la *segunda* fase se evaluó el uso de la radiación UV-C con dosis de 4,5; 9,5 y $12,5\text{ kJ/m}^2$, las dos primeras incrementaron la vida poscosecha de fruto 7 días respecto a los controles y tratados con $12,5\text{ kJ/m}^2$. El tratamiento con $9,5\text{ kJ/m}^2$ retiene la calidad del fruto aún más que la dosis de $4,5\text{ kJ/m}^2$ y debido al retraso en el deterioro y menor pérdida de peso fue seleccionada como dosis efectiva. Durante el almacenamiento (21 días a 4°C), la dosis de $9,5\text{ kJ/m}^2$ retuvo dos atributos importantes de calidad de la naranjilla: firmeza y color, retrasando el daño por frío, el oscurecimiento y el desarrollo de manchas superficiales. No produjo efectos perceptibles sobre atributos de calidad como pH, acidez titulable, sólidos solubles y *ratio* (relación sólidos solubles:acidez); y retardó el crecimiento de microflora nativa (aerobios mésofilos, mohos y levaduras). También permitió mantener un mayor nivel

de TEAC y mayor contenido de carotenoides (CT) sin interferir con el contenido de FT. El tratamiento produjo una acumulación de derivados de espermidina (detectados por HPLC) y ácidos grasos poliinsaturados (detectados por CG-EM) que potenciaron las cualidades nutricionales de los frutos almacenados. En la *tercera* fase, se evaluó la exposición de frutos de naranjilla a 1-MCP en una concentración de 0,5 $\mu\text{L/L}$ durante 8, 12 y 24 h y posterior almacenamiento a 4 °C. En base a la menor pérdida de peso y menor deterioro se seleccionó un tiempo de exposición óptimo de 8 h. Durante 21 días de almacenamiento el 1-MCP disminuyó la tasa respiratoria y pérdida de firmeza sin afectar significativamente la producción de etileno y el pH. El tratamiento no produjo claros efectos sobre la acidez, sólidos solubles y *ratio*. Los frutos tratados presentaron mejores características de color y calidad microbiológica ya que los frutos tratados presentaron menores niveles en la población de aerobios mesófilos, mohos y levaduras. El tratamiento no afectó significativamente al contenido de FT respecto a los frutos control, produjo un incremento de CT y la TEAC fue mayor que en los frutos controles. En consecuencia, el avance del deterioro del fruto se vio ralentizado; los frutos control perdieron su calidad organoléptica y comercial en el día 14 mientras que los frutos tratados mantuvieron mejores características de calidad durante los 21 días de almacenamiento. También se observó una acumulación a tiempos largos de almacenamientos de derivados de espermidina y ácidos grasos insaturados. En la *cuarta* fase, se aisló de la microflora nativa de naranjilla un hongo filamentoso, cuya identidad se determinó como *Fusarium polyphialidicum*. Posteriormente, se estudió el efecto de pretratamientos con radiación UV-C (9,5 kJ/m^2) y el 1-MCP (0,5 $\mu\text{L/L}$ - 8h) y como estas tecnologías podían potenciar mecanismos de defensa del fruto para ralentizar la infección de este hongo que fuera inoculado post-tratamiento. Si bien ambos pretratamientos fueron efectivos en el control de la infección, la radiación UV-C logró mejores resultados que el 1-MCP. El pretratamiento produjo cambios en las actividades enzimáticas de PPO, POX, PAL y en el contenido de FT, sugiriendo una activación del sistema de defensa del fruto frente al estrés biótico producido por el ataque del hongo. En la fase *final* de investigación, se agregó puré de naranjilla cv Baeza a la formulación de pan de molde y así proponer una alternativa de alimento funcional y coloreado naturalmente. La calidad panadera del pan de naranjilla fue levemente menor que el pan de trigo blanco (control), mostrando un menor volumen específico, mayor dureza y color amarillo en la miga, pero que fueron aceptados y muy bien puntuados en el análisis sensorial de los consumidores. Adicionalmente, el pan estuvo enriquecido en FT, CT y TEAC aportados por la naranjilla, y la matriz del pan habría permitido una mejora en la bioaccesibilidad de estos compuestos con actividad antioxidante en la digestión *in vitro*. El pan enriquecido con naranjilla además de una buena aceptabilidad, presentó potenciales características funcionales benéficas para el consumidor.

Introducción general y objetivos



INTRODUCCION GENERAL

1. NARANJILLA

La naranjilla (*Solanum quitoense*) es un fruto que pertenece la familia de las solanáceas. Es originaria de los sotobosques subtropicales de los Andes de Ecuador, crece principalmente en los flancos de la cordillera andina en sitios con buena humedad, regiones frescas y sombreadas en torno a los 800 y 1400 m.s.n.m. También se cultiva en Perú, Colombia, México y Costa Rica. Es una fruta climatérica de exquisito sabor y aroma (Pastrana, 1998; Franco et al., 2002; Valverde et al., 2010; Gómez-Merino, et al., 2014).

Su nombre se deriva de su descripción como "naranja pequeña". En Ecuador fue llamada "naranjilla de Quito" o "nuqui", en Perú "naranjita de Quito" y los Incas las llamaban "lulum", en Colombia es llamada "lulo" (Patiño, 1963; IICA, 2007).

1.1. Descripción

Debido a la importancia económica que representa la producción de naranjilla en el Ecuador, el Programa Nacional de Fruticultura del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) ha realizado numerosos estudios desde hace varios años (Tapia et al., 1993; Revelo et al., 2010; Vásquez et al., 2011).

Se describe a la naranjilla como una planta semisilvestre, cuya **raíz** principal penetra hasta 50 cm y tiene gran desarrollo de raíces laterales. El **tallo** es robusto, semileñoso, cilíndrico y veloso (con o sin espinas). Crece erecto y ramificado desde el suelo y presenta ramificaciones. Las ramas son fibrosas y resistentes con distribución radial, son verdes y succulentas, a medida que maduran se vuelven cafés y leñosas. Son plantas arbustivas de hasta 2,0 m de altura (**Figura 1a**). Las **hojas** son grandes (30 a 40 cm de largo), alternas, de forma oblonga, ovaladas, de color verde oscuro por el haz y verde claro por el envés, presentan nervaduras pronunciadas de color violeta, algunas plantas pueden presentar espinas en las nervaduras de las hojas (**Figura 1b**). Las **flores** se agrupan en corimbos de tres a doce unidades, son hermafroditas. Se pueden encontrar tres tipos de flores: de pistilo largo, medio y corto, de color blanco (**Figura 1c**).

Los **frutos** son pequeñas bayas globosas ligeramente achatadas que poseen una piel que va cambiando su color conforme avanza la maduración, según la norma técnica ecuatoriana - NTE INEN 2 303 (2009), se tienen 5 grados de madurez en relación al desarrollo de color amarillo en la superficie, siendo estos: (1) 100% color verde, (2) 25 % color amarillo, (3) 50% color amarillo, (4) 75% color amarillo y (5) 100% color amarillo, que podrá ser amarillo intenso-rojizo-anaranjado. El fruto está cubierto por diminutas

vellosidades o tricomas de color amarillo o rojo que se desprenden a medida que madura (**Figura 1d y 1e**). En el interior, el fruto es jugoso y de sabor agridulce, tiene el aspecto de un tomate verde; la pulpa madura tiene un pH de 3,6 a 4 (MAGAP, 2011). Las **semillas** son lisas, redondeadas de 2 a 3 mm de diámetro (**Figura 1f**), de color blanquecino cremoso. Cada fruto presenta entre 800 a 1200 semillas.

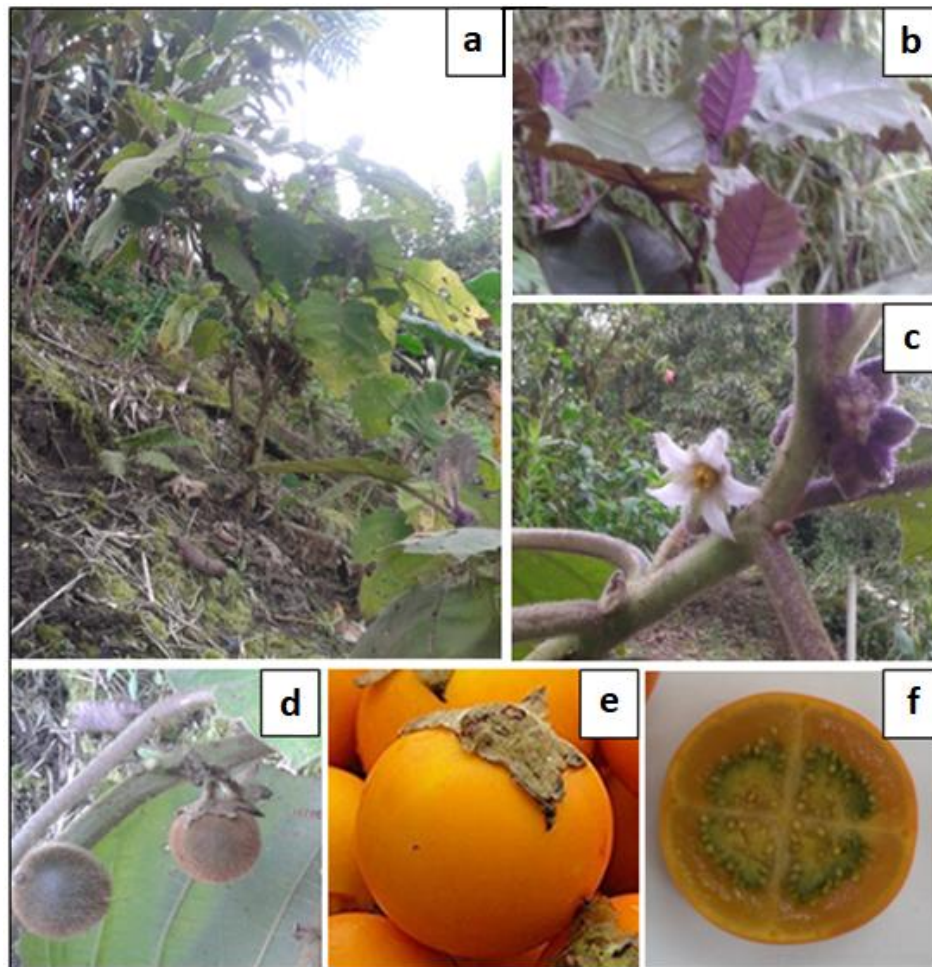


Figura 1 Naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.): (a) planta, (b) hojas, (c) flores, (d) frutos verdes, (e) frutos maduros y (f) semillas

Según explican Ramírez et al. (2018), el crecimiento del fruto de naranjilla presenta una curva sigmoideal dividida en tres fases: la primera de proliferación celular con crecimiento lento (aproximadamente 80 días después de la antesis), la segunda con elongación celular con rápido crecimiento caracterizado por una reducida intensidad respiratoria (hasta 120 días después de la antesis) y, la tercera de finalización de la maduración (180 días después de la antesis). Durante este periodo se observa el pico climatérico y posterior decrecimiento de la intensidad respiratoria.

1.2. Clasificación taxonómica

La familia de las solanáceas está dividida en 8 géneros, dentro del género *Solanum* existen 1330 especies en los que consta la especie *Solanum quitoense* Lam. (Martins y Barkman, 2005). La clasificación taxonómica de la naranjilla se presenta en la **Tabla 1**.

Tabla 1 Clasificación taxonómica de la naranjilla (Fuente: Tipanluisa, 2011)

Reino	Vegetal
Subreino	Espermatofhyta
División	Angiosperma
Subdivisión	Dicotiledónea
Clase	Simpétala
Subclase	Pentacíclica
Orden	Tubiflorales
Familia	Solanácea
Género	<i>Solanum</i>
Especie	<i>quitoense</i>
Nombre binomial	<i>Solanum quitoense</i>

1.3. Especies silvestres y variedades

En Ecuador y en la región andina se han identificado varias especies silvestres relacionadas con la naranjilla (**Figura 2**) que han sido utilizadas en programas de mejoramiento genético con el fin de lograr mayor resistencia a plagas (nematodo del nudo de la raíz, marchitez vascular, antracnosis). Además, se han desarrollado clones mejorados a partir de cruzamientos interespecíficos de la naranjilla común (*Solanum quitoense*) con especies silvestres del género *Solanum* sección Lasiocarpa, a la que pertenece la naranjilla, como *S. vestissmun*, *S. hispidum*, *S. sessiflorum* y *S. hirtum*. Estos clones que presentan resistencia a *Fusarium oxysporum* y a *Meloidogyne incognita* (Revelo et al., 2010).



Figura 2 Especies silvestres relacionadas con la naranjilla: (a) *Solanum sessiflorum* -cocona-, (b) *Solanum hispidum* -cujacu- y (c) *Solanum hirtum* -espinuda-

Localmente se cultivan y comercializan diferentes variedades e híbridos de naranjilla (Revelo et al., 2010; Vásquez et al., 2011; Brito et al., 2011):

- **Variedad "agria" (*Solanum quitoense* Lam var. *quitoense*)**. Presenta el fruto esférico, ligeramente achatado, de color amarillo rojizo con un diámetro de 5 a 7 cm, se caracteriza por una piel fina, pulpa verde y sabor agridulce (**Figura 3a**). Es utilizado para la elaboración de refrescos, helados y alimentos preparados. Se cultiva poco debido a su alta susceptibilidad a perforadores del tallo y fruto, al nematodo del nudo de la raíz y a la marchitez vascular producida por *Fusarium oxysporum*. Esta variedad es la de menor producción en comparación con el resto de variedades y generalmente se comercializa en mercados locales de la provincia de Pastaza (región oriental del Ecuador).

- **Variedad Baeza "dulce" (*Solanum quitoense* Lam var. *quitoense*)**. Presenta características similares a la variedad "agria" diferenciándose por tener frutos más grandes con diámetro mayor a 7cm. La piel de esta variedad es más gruesa, tiene una pulpa verdosa y sabor dulce (**Figura 3b**). La susceptibilidad a perforadores del tallo y fruto y al nematodo del nudo de raíz es similar a la variedad "agria". Es utilizada para la preparación de dulces, refrescos y gelatinas. Esta variedad representa una de los principales cultivos de naranjilla en la región nororiental del Ecuador no obstante es superada por variedades con menor susceptibilidad al ataque de plagas. Desde su lugar de origen es transportada vía terrestre hasta mercados mayoristas ubicadas en las principales ciudades de la sierra y costa ecuatorianas.

- **Variedad Baeza "espinosa" (*Solanum quitoense* Lam var. *septentrionale*)**. Sus cultivos se encuentran principalmente en Colombia. El fruto es esférico, de color rojizo con un diámetro entre 4 a 5 cm. Es una planta más tolerante a problemas de plagas a diferencia de las variedades anteriores.

- **Variedad INIAP-Quitoense 2009 (*Solanum quitoense* Lam var. *quitoense*)**. Es una naranjilla de jugo que proviene de la variedad Baeza desarrollada por el Programa de Fruticultura del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP - Ecuador) entre los años 2005 y 2007, y mejorada a través de diferentes ensayos entre los años 2008 y 2009. Las plantas presentan una altura cercana a los 2 m; los tallos y hojas carecen de espinas. Los frutos son redondos y de diámetros mayores a 7 cm, tiene la pulpa verde y con menor oxidación que las variedades anteriores (**Figura 3c**). Presenta alta productividad y buenas características para el consumo en fresco e industrial y es la de mayor comercialización en el país, se cultiva tanto en la región oriental y en las estribaciones occidentales de la cordillera de los Andes lo que facilita su transporte y comercialización en mercados de la costa, sierra y oriente del país.

- **Híbrido Puyo**. Se obtuvo mediante cruzamiento entre la naranjilla jíbara del Oriente o cocona (*Solanum sessiflorum*) y la naranjilla común variedad "agria". Produce frutos pequeños y su piel es anaranjada

brillante y pulpa verde-amarillenta. La semilla es infértil y se propaga por vía vegetativa. Durante su cultivo se utilizan pesticidas para el control de plagas, manteniendo residuos que son perjudiciales para la salud del consumidor e impide su exportación.

- **Híbrido INIAP Palora.** Es un producto resultado del cruzamiento realizado entre la naranjilla común variedad Baeza roja y *Solanum sessiliflorum* variedad cocona Yantzaza. El fruto presenta la piel rojiza y pulpa amarillenta, sabor ácido y semillas infértiles. La piel es gruesa y resiste a la manipulación y el transporte; sin embargo, la calidad de la fruta es inferior a la "verdadera" naranjilla. Es tolerante a nematodos e insectos.

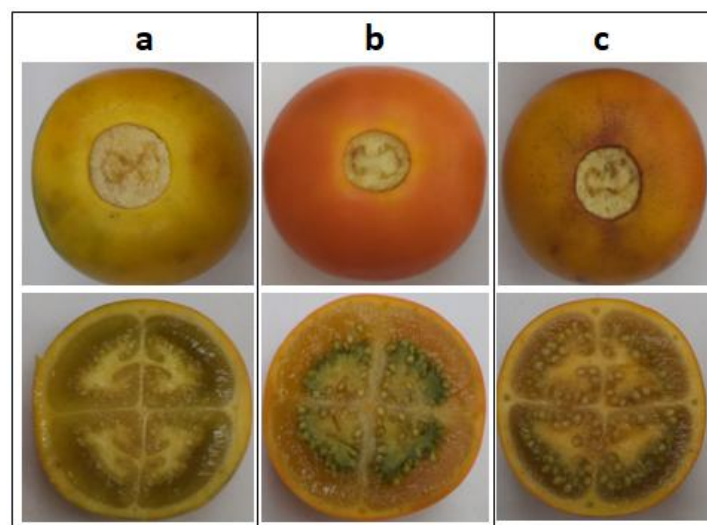


Figura 3 Variedades de naranjilla *Solanum quitoense*: (a) agria, (b) Baeza y (c) INIAP Quitoense-2009

1.4. Composición química y valor nutricional

La naranjilla presenta un alto nivel de vitaminas (principalmente de vitamina C o ácido ascórbico, que incluso es mayor al de los cítricos) y carotenoides, así como también gran cantidad de antioxidantes (Acosta et al., 2009; Brito et al., 2011). En la **Tabla 2** se indica la composición química y valor nutricional de la naranjilla.

Tabla 2 Composición química y valor nutricional de la naranjilla (Fuente: Brito et al., 2011)

Parámetro	Cantidad*
Humedad (%)	90,46
Acidez titulable (% ácido cítrico)	2,56
pH	3,00
Sólidos solubles (°Brix)	10,80
Cenizas (%)	0,59
Extracto etéreo (%)	0,11
Proteína (%)	0,64
Fibra (%)	0,46
Carbohidratos totales (%)	7,74
Vitamina C (mg/100g)	53,33
Polifenoles totales (mg/g)	0,81
Carotenoides totales (µg/g)	1,27
Calcio (µg/g)	48,00
Magnesio (µg/g)	124,00
Fósforo (µg/g)	95,00
Potasio (µg/g)	3,09
Sodio (µg/g)	5,00
Hierro (µg/g)	1,00
Zinc (µg/g)	2,00

* Cantidad por 100 g de porción comestible

Gancel et al., (2008) realizaron la caracterización de compuestos fenólicos de la naranjilla "híbrido Puyo" encontrando ácido clorogénico y dehidrocafeoil espermidina localizados en todo el fruto (piel, placenta y semillas), mientras que compuestos como ácidos clorogénicos glicosilados y dehidrocafeoil espermidina se encontraron en la placenta y pulpa, en tanto que en la piel se encontró flavanol glucósidos. Además, se identificaron carotenoides como luteína, y derivados del β -caroteno como 13-cis- β -caroteno, 9-cis- β -caroteno y all-trans β -caroteno también localizados en la piel, placenta y semillas. Varios autores destacan el potencial antioxidante de la naranjilla, resultando un fruto de interés desde el punto de vista nutricional. Por ello es sumamente interesante el consumo en fresco o el empleo de este para desarrollar nuevos productos con valor agregado. Así, es necesario el mejoramiento de las condiciones de almacenamiento que constituyen un factor limitante para la comercialización de este fruto (Mertz et al., 2009; Gancel et al., 2008; Vasco et al., 2008).

1.5. Generalidades del cultivo

La zona del cultivo de naranjilla requiere lluvia con valores de 2500 mm, crece bien bajo sombra con un promedio de 2,5 horas de luz al día. La temperatura óptima es de 20 °C. El suelo debe ser franco, rico en materia orgánica y con buen drenaje, con un pH óptimo de 5,2 a 6,2. Se siembra durante todo el año

una cantidad de 2000 a 2500 plantas por ha. La distancia de siembra debe ser de 3x2, 2x2,5 y 3x3 m. Las plantas se podan haciendo cortes de ramas bajas y enfermas. La cosecha se realiza a partir de los 10 meses del trasplante (INIAP, 1987) y la mayor producción en el Ecuador se presenta los meses de abril, mayo, octubre y noviembre.

La naranjilla es atacada por diferentes plagas en las distintas partes de la planta, según se resume a continuación (Pastrana, 1998):

- Plagas de la raíz: se desarrollan enfermedades como perla de tierra producida por *Eurhizococcus colombians*, la chiza o mojoy produced por *Clavipalpus ursinus* y *Phyllophaga spp.*
- Plagas del tallo y ramas: se producen generalmente por insectos como barrenador (Alcidion), piojo blanco (*Pinnaspis spp.*), ácaro blanco (*Polyphagotasonemus latus*).
- Plagas en las hojas: cucarroncito del follaje (*Leptinotarsa undecimleata*); arañita roja (*T. cinnabarinus*), trips (*Trips palmi*).
- Plagas de las flores: perforador de brotes y flores (*Simmetryscheema insertum*), gusano de la flor (*Phthorimae spp.*).
- Plagas del fruto: mosca de la fruta (*Anastrepha spp.*), chinche patón (*Leptoglossus spp.*), y como una de las principales plagas de la naranjilla se reporta al barrenador del fruto (*Neoleucinodes elegantis*). Siendo una de las causas de mayores pérdidas económicas, esta plaga se ha encontrado en todas las zonas de cultivo del Ecuador (Sosa, 2009). Las larvas del barrenador penetran al fruto para alimentarse de la pulpa, para salir abre un orificio de salida permitiendo el ingreso de hongos y bacterias patógenas que aceleran la pudrición del fruto (Viafara et al., 1997). Otra plaga que es una limitante importante del cultivo de la naranjilla es la fusariosis, causada por *Fusarium oxysporum*, este es un hongo patógeno que se encuentra en el suelo y se transmite por la semilla (Ochoa et al., 2010).

Para el control de plagas se utilizan plaguicidas de los que existe un uso indiscriminado llegando a niveles de alta toxicidad siendo perjudicial para los productores y para los consumidores. Es el caso de Aldicarb (TEMIK*) cuyo registro fue cancelado, carbofurán (FURADAN) es muy empleado a pesar de ser de uso restringido y no está registrado por la FAO/OMS en su *Codex Alimentarius* y el herbicida 2,4D reporta niveles residuales que superan 20 veces la tolerancia que indica la Agencia de Protección Ambiental (EPA) de los Estados Unidos (Lucio et al., 1997).

1.6. Producción y comercialización

Desde la época colonial (siglo XIX) el cultivo de naranjilla ha sido importante para los colonizadores de la región amazónica del Ecuador, convirtiéndose en un fruto tradicional del país. Las zonas de producción están localizadas en las estribaciones de la cordillera andina y en la llanura amazónica. Entre las localidades que se destacan por la producción del fruto están: Baeza, valle del río Quijos, Puyo, Lago Agrio, Archidona, Loreto (zona oriental del país) y Nanegalito, Los Bancos y Chiriboga (zona noroccidental del país), según se puede observar en la **Figura 4** (MAGAP, 2011). El Ecuador, al estar situado en la mitad del mundo, cuenta con microclimas ideales y luminosidad suficiente para que los cultivos puedan obtener altas concentraciones de azúcares (Brito et al., 2011).

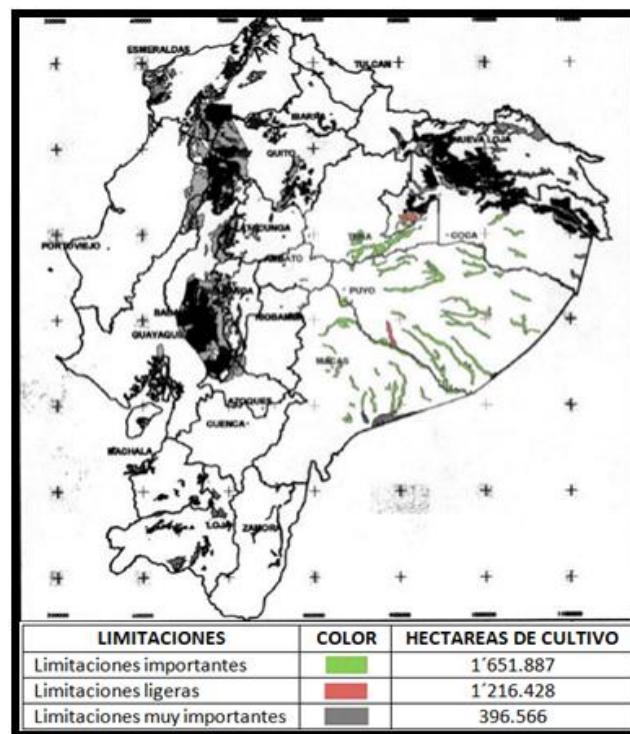


Figura 4 Zonas de producción de naranjilla en el Ecuador (Fuente: MAGAP, 2011)

En los últimos años las frutas exóticas ecuatorianas han logrado posicionarse en el mercado internacional en países asiáticos, europeos y americanos. Las frutas exportadas se utilizan para consumirlas en fresco o para elaborar productos. Los principales destinos de las exportaciones de naranjilla (y otros cítricos) desde Ecuador son Estados Unidos (52 %), España (41 %), Emiratos Árabes y Países bajos (3 %). El estado ecuatoriano invierte recursos en investigación para obtener nuevas variedades resistentes en el período de tránsito hasta su llegada al mercado de destino y a las

condiciones de comercialización internacionales (PROECUADOR, 2014; MAGAP, 2011). Los productos de exportación en base a naranjilla son: jugo, conserva, pulpa congelada y concentrado.

Se encuentra una superficie sembrada de 6000 ha, registrándose exportaciones de fruta fresca de 69000 TM generando un ingreso de U\$D 170900. La mayor producción se produjo entre los años de 2005 y 2011 (PROECUADOR, 2014; BCE, 2016). En el año 2015 la exportación de pulpa de naranjilla generó ingresos de U\$D 37000 con una producción de 14900 TM (BCE, 2016).

Para la exportación, las naranjillas se transportan en cajas con un peso promedio de 32kg, con una distribución de 20 a 30 frutas por caja, se colocan sobre y bajo papel picado y se recomienda usar bandejas con celdas por cada fruta. Las cajas para un máximo de 30 frutas pueden ser de cartón con hoyos de respiración; para el transporte de 4000 frutas deben ser de madera. El transporte por vía marítima se realiza en contenedores refrigerados entre 7 y 10°C con una humedad relativa de 70-80 % (IICA, 2007).

En el mercado interno la naranjilla se comercializa para su consumo en fresco principalmente, para la elaboración de jugos y otras preparaciones culinarias como salsas, postres y helados. Es un ingrediente exótico para salsas de platos gourmet, “chutneys”, ensaladas de frutas y vegetales.

En los comercios populares se mantiene a temperatura ambiente volviéndose altamente perecible debido a la mala manipulación (**Figura 5a y 5b**). En los supermercados se expende almacenada a temperatura ambiente y también en refrigeración (**Figura 5c**), en los últimos años se encuentran en el mercado nuevas presentaciones (**Figura 5d**), mientras que procesada se consume principalmente como pulpa refrigerada y congelada (**Figura 5e**).



Figura 5 Formas de comercialización de naranjilla a nivel local: (a y b) mercados populares; (c) supermercados; (d) naranjilla empacada y (e) pulpa de naranjilla congelada

1.7. Cosecha y manejo poscosecha

El manejo poscosecha involucra diferentes procesos como: cosecha y transporte, recepción en planta, selección, limpieza, clasificación, empaque y almacenamiento (MAG/IICA, 2001).

La cosecha se realiza en las primeras horas de la mañana y no se recomienda recolectar con lluvia ni en días soleados, esta última condición provoca calentamiento de los frutos y pérdidas por deshidratación, mientras que el exceso de humedad hace al fruto susceptible al ablandamiento, rajaduras, fermentación y crecimiento de hongos. El método de cosecha es manual, se usan guantes para protección de los tricomas.

La producción de naranjilla es permanente, en la planta se encuentran siempre flores y frutos en diferente estado de desarrollo o maduración. La frecuencia de recolección es de cada 8 o 15 días (Pastrana, 1998).

El pedúnculo se puede cortar con tijeras previamente desinfectadas con alcohol, no se debe retirar el cáliz para no causar heridas en el punto de abscisión ni pérdidas por deshidratación. Además, se debe realizar un acondicionamiento de la fruta en un sitio de acopio del lote o de la finca que debe ser ventilado y protegido de la lluvia, la clasificación debe realizarse sobre una superficie suave donde se pueda limpiar y empacar (CORPOICA, 2002).

La selección se hace bajo parámetros de regularidad, coloración uniforme y buena formación del fruto. Se retiran las unidades que presenten defectos como frutas partidas, rotas, rajadas, magulladas y blandas o con raspaduras. La clasificación se hace según el calibre en grande, mediana y pequeña (NTE INEN 2 303, 2009).

La limpieza consiste en la eliminación de los tricomas, se debe hacer en bandejas de cuero donde se hacen rodar los frutos o se rotan para reducir las espinas, se pueden también utilizar zarandas. Posteriormente puede realizarse un encerado para mejor protección del fruto.

Los frutos se empacan generalmente en cajas de madera o en costales plásticos lo que provoca daños físicos que producen pérdidas del producto (**Figura 6**).



Figura 6 Cosecha, clasificación y empaque de naranjilla

La temperatura óptima para su conservación poscosecha es de 7-10 °C (IICA, 2011). A temperaturas menores sufre daño por frío. La naranjilla almacenada en gavetas plásticas tiene una conservación de 15 días cuando se cosecha en el grado 3 y 4 de madurez mantenida a 17 °C y 59 % humedad relativa; se conserva hasta 30 días al cosecharse en estado 3 y hasta 20 días cuando es cosechada en estado 3 de madurez si es almacenada a 8 °C con 80 % de humedad relativa (Brito et al., 2011). Los frutos cosechados con grado de madurez 5 pueden conservarse a temperatura ambiente por 8 días (García y García, 2001). Sin embargo, cabe señalar que las condiciones reales en las que se transporta y conserva son generalmente a temperatura ambiente; en estas etapas principalmente las malas prácticas de manipulación afectan la calidad de la fruta disminuyendo su vida útil provocando altas pérdidas económicas.

1.8. Problemas durante el manejo poscosecha

La calidad poscosecha de los productos frutihortícolas está influenciada por factores intrínsecos como la variedad, especie, estado de desarrollo, comportamiento fisiológico; y extrínsecos como el uso al que será destinado, condiciones ambientales y finalmente las distancias entre los centros de acopio y de procesamiento.

En el Ecuador, las pérdidas poscosecha pueden llegar hasta un 50 % debido al manejo inadecuado de los frutos, por este motivo es necesario implementar mayor capacitación y transferencia de tecnología desde la misma cosecha, clasificación, embalaje, transporte, control de calidad, técnicas de conservación, entre otros (Bonilla, 2010). Siendo necesario fortalecer la investigación para generar tecnología para los productos como la naranjilla enfocada principalmente en el mercado para exportación.

Las pérdidas poscosecha se pueden clasificar en varias categorías (Muñoz et al., 1999):

- Pérdidas directas: cambios físicos o químicos que afectan la calidad de la fruta.
- Pérdidas indirectas: pérdida de calidad con agentes ambientales o prácticas agrícolas deficientes.
- Pérdidas económicas: variaciones de precios en el mercado entre la oferta y demanda.
- Pérdidas de origen tecnológico: carencia o inadecuada aplicación de tecnologías.
- Pérdidas fisiológicas: debido a la senescencia, pérdidas de peso por las condiciones de almacenamiento.

Según explican López-Jaramillo (2011), CORPOICA (2002) y García y García (2001), los frutos de naranjilla sufren daños mecánicos y desórdenes fisiológicos que se describen a continuación (**Tabla 3**):

Tabla 3 Problemas poscosecha de la naranjilla

Daño	Efecto
Daños mecánicos	Debido a la compresión entre las frutas a medida que se apilan en contenedores demasiado llenos. Pueden ser causadas por objetos agudos, recipientes y manipulación inadecuada, en el momento del empaque, acondicionamiento y transporte
Por insectos	Son originadas en el campo y pueden ocasionar deformaciones durante el crecimiento, manchas rojizas, cicatrices, entre otros. Algunos insectos se reproducen en el interior de la fruta, empleando como alimento a la pulpa de la fruta
Exposición directa y excesiva de la fruta al sol, falta de ventilación de los recipientes, medios de transporte y lugares de almacenamiento	Eleva la tasa de respiración y transpiración, deshidratación y textura blanda. La fruta adquiere sabores desagradables y puede acelerar su descomposición
Exposición de las frutas a temperaturas de refrigeración inferiores a su nivel de tolerancia	Provoca decoloración interna y superficial, presencia de áreas pardas endógenas, falta de sabor, áreas de la pulpa saturadas de agua, picaduras, descomposición o deterioro acelerado, maduración anormal
Exposición a la lluvia o condiciones de humedad elevada	Hace al fruto susceptible el ataque de hongos y ablandamiento del producto
Contaminación química	Se produce por el almacenamiento de frutas con productos químicos, uso de contenedores tratados con conservantes, colocación del producto en cajas contaminadas no desinfectadas
Daño por frío	Es un desorden fisiológico que se produce por el almacenamiento en refrigeración con temperaturas más bajas de las recomendadas (<7°C). El fruto presenta picaduras superficiales, decoloración, maduración irregular, marchitez, pérdida de sabor y sensibilidad al ataque microbiano

Por otro lado, la naranjilla es afectada por patógenos diversos (hongos, bacterias, nematodos y virus), durante la etapa de poscosecha es más frecuente el desarrollo hongos que producen defectos en la fruta (**Tabla 4**).

Tabla 4 Enfermedades poscosecha de naranjilla

ENFERMEDAD	SINTOMAS
Podredumbre bacteriana (<i>Erwinia spp.</i>)	Frutos blandos con pudrición acuosa de color marrón oscuro y mal olor
Antracnosis (<i>Collectotrichum spp.</i>)	Manchas de color pardo oscuro a negro que se hunden, desarrollo de masas cremosas de color salmón en la superficie del fruto
Candidiasis (<i>Candida spp.</i>)	Desarrollo de micelio blanco y frutos blandos
Pudrición amarga (<i>Geotrichum spp.</i>)	Fruto blando y crecimiento blanco en la superficie del fruto y la corona, luego se transforma en masa acuosa descompuesta y olor desagradable
Moho verde (<i>Penicillium spp.</i>)	Inicio de la lesión en un punto pequeño y ligeramente decolorado, aumenta su diámetro en 36 horas, pudriendo la pulpa, luego presencia de polvo verde oliva en la superficie de la fruta
Pudrición blanda (<i>Rizhopus spp.</i>)	Inicialmente la apariencia es acuosa y blanda, a través de las heridas del fruto, crecimiento algodonoso color gris oscuro, cáscara arrugada y blanda, la que al manipularla se rompe ocasionando la salida de un líquido amarillo blancuzco
Marchitez en el tallo (<i>Fusarium spp.</i>)	El ataque se inicia por las raíces y se propaga por el sistema vascular de la planta y produce manchas necróticas que provocan marchitamiento. En el fruto presenta crecimiento blanco en la corona desde donde inicia la descomposición del tejido interno.

Desde hace más de dos décadas se han desarrollado programas para mejorar las condiciones de manejo pre y poscosecha de frutales y hortalizas de exportación. Durante la etapa de cultivo el agricultor realiza grandes esfuerzos para obtener frutos de buena calidad. Sin embargo, se presentan intensos daños físicos en los productos debido a la mala manipulación o a la delicadeza de la fruta madura ocasionando pérdidas poscosecha durante toda la cadena de comercialización con un costo económico y social importante (Muñoz et al., 1999; IICA-PROCIANDINO, 1996).

2. FISIOLÓGÍA POSCOSECHA

La fisiología poscosecha estudia los procesos, cambios y comportamientos que presenta una fruta u hortaliza después de ser cosechada. Este comportamiento está influenciado por condiciones precosecha que incluyen factores biológicos (patológico, entomológico), fisiológicos (desbalances nutricionales, madurez), ambientales/culturales (clima, suelo, intensidad lumínica), daños mecánicos y variación genética. Todos estos factores influyen sobre aspectos como la madurez, respiración, transpiración y resistencia al frío (Bartz y Brecht, 2003; Fischer, 2005).

Las frutas son estructuras vivas que presentan etapas fisiológicas de formación, crecimiento, maduración y senescencia, las cuales requieren de nutrientes y energía que la planta se encarga de suministrar mientras se hallan unidas a ella. Después de recolectadas, las frutas continúan sus procesos metabólicos manteniendo los mismos sistemas fisiológicos que cuando estaban unidas a la planta, aunque ahora consumen sus propias reservas.

2.1. Grado de madurez

La madurez implica el desarrollo completo de la fruta, se pueden diferenciar 3 tipos: (1) madurez fisiológica: cuando se ha alcanzado un desarrollo suficiente para que luego de la cosecha su calidad sea la mínima aceptable para el consumidor y en general se necesita que la fruta esté unida a la planta; (2) la madurez de cosecha: cuando ha alcanzado un nivel en el que puede cosecharse y el momento depende del uso posterior al que será destinada, y (3) la madurez organoléptica o de consumo: cuando la fruta reúne las condiciones para ser utilizada o consumida y se presenta en la poscosecha.

Es importante establecer índices de recolección para cada producto ya que se pueden usar para manejar, mitigar o retrasar la senescencia, ya que la maduración es un proceso irreversible. Se define a la madurez como un proceso fisiológico y bioquímico que está bajo control genético y hormonal acompañado por cambios a nivel celular y aumento de tamaño. En esta etapa se requiere la síntesis de proteínas y RNAm, pigmentos y compuestos que aportan al sabor. La energía que se utiliza en estos procesos bioquímicos es proporcionada por el proceso de respiración (Singh et al., 2011).

En la mayoría de los frutos el criterio más utilizado por los consumidores para decidir si la fruta está o no madura es la pérdida de color verde debido a la degradación de la clorofila y la posterior síntesis de compuestos coloreados (amarillos, naranjas y rojos). Estos cambios de color se deben a cambios en el pH por la salida de ácidos orgánicos al exterior de las vacuolas, a la acción de clorofilasas y a procesos de síntesis de carotenoides o antocianinas.

Los frutos deben ser recolectados en un grado de madurez entre 3-4 con un desarrollo de color amarillo en el 75 % de su superficie (**Figura 7**). El desarrollo de la coloración superficial del fruto se debe a la síntesis de carotenoides, siendo mayoritariamente β -caroteno (Gancel et al., 2008), la aparición del color amarillo generalmente se observa desde la base hacia el pedúnculo según el área de exposición a la luz solar. El periodo desde la antesis hasta la cosecha es de aproximadamente 180 días (Ochoa-Vargas et al., 2016) este variará según la variedad y las condiciones ambientales del cultivo. Estudios realizados por Casasierra-Posada et al. (2004), para determinar el punto óptimo de cosecha de variedades "quitoense" y "septentrionale" indican que si los frutos son cosechados en grado de madurez 1 alcanzan el grado de madurez 5 aproximadamente entre 12 a 15 días si se mantienen a temperatura ambiente o en refrigeración, mientras que si son cosechadas en grados de madurez 3 o 4, el tiempo para alcanzar el grado de madurez 5 se reduce a 5 días indistintamente de las condiciones de almacenamiento.

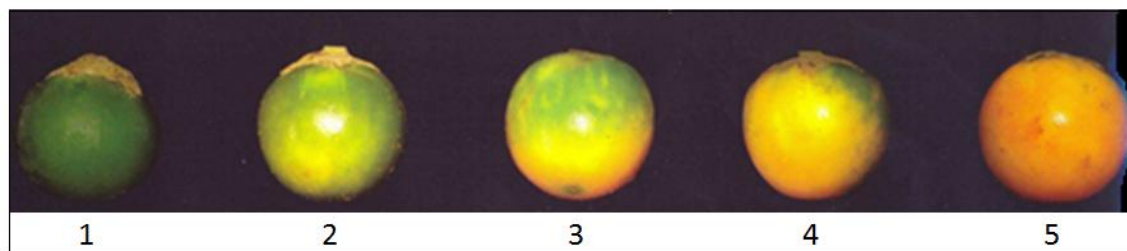


Figura 7 Grados de madurez de la naranjilla (NTE INEN 2 303, 2009)

La variación de la dureza de los frutos durante la maduración se da por la transformación de protopectinas insolubles en pectinas solubles lo que produce pérdida de consistencia de las paredes celulares. Además, existe modificación del sabor y olor por cambios en la concentración de azúcares, ácidos orgánicos, compuestos volátiles (ésteres, alcoholes, aldehídos y cetonas) y vitaminas.

Durante la maduración de la naranjilla la epidermis cambia de color verde oscuro a verde claro, posteriormente adquiere tonalidades amarillas, que avanzan desde la base hacia el pedúnculo, hasta llegar al color amarillo-rojizo característico de los frutos maduros. En general, se cosecha en estados 3 o 4 (**Figura 6**), a partir de que el color amarillo ocupa el 75 % de la superficie del fruto. Además, ocurre un incremento en los sólidos solubles, una reducción del grosor de la piel y ablandamiento de los frutos (González-Loaiza et al., 2014; Acosta et al., 2009; Casasierra-Posada et al., 2004).

2.2. Respiración

La respiración es un proceso biológico de oxidación que supone la transformación de moléculas complejas como almidón, azúcares o ácidos orgánicos que normalmente se encuentran en plantas y son transformados en CO_2 y H_2O . Este proceso genera energía y moléculas intermediarias que son utilizadas en un sinnúmero de reacciones anabólicas esenciales para mantener la organización celular y la integridad de la membrana.

Los procesos de respiración aeróbica involucran la generación de ATP a partir de ADP y P_i con la formación de CO_2 y H_2O ; son tres reacciones complejas que forman parte del proceso de respiración aeróbica cada una de las cuales está catalizada por un número específico de enzimas, estas tres vías se encuentran interconectadas y son la glucólisis, el ciclo de los ácidos tricarboxílicos y el sistema transportador de electrones.

En general hay una relación inversa entre la tasa de respiración (TR) y la vida poscosecha de frutas y hortalizas (Kader, 2007; Bartz y Brecht, 2003; Wills et al., 1999). Una alta TR supone el tener productos altamente perecibles y con ello una corta vida poscosecha. Esta relación entre la TR y la vida poscosecha se da por:

- Uso de sustratos en la respiración: pueden producir pérdida de calidad sensorial (especialmente dulzura) y pérdidas nutricionales para el consumidor
- Requerimientos de oxígeno: para mantener la respiración aeróbica se necesita un adecuado abastecimiento de oxígeno. Este aspecto debe ser considerado al elegir una tecnología de conservación como ceras de recubrimiento y materiales de empaque. Debe tomarse en cuenta que la reducción de oxígeno es una técnica que influye sobre la TR y retrasa la senescencia.
- Producción de CO_2 : la acumulación de CO_2 producido por los frutos y vegetales en su entorno puede ser benéfico o perjudicial, dependiendo de la tolerancia de cada producto al CO_2 . En algunos productos la modificación de la concentración de CO_2 en la atmósfera de empaque se usa para retrasar la senescencia y el crecimiento fúngico.
- Calor de respiración: la energía producida por la respiración es cerca de 673 kcal/mol de azúcar utilizada. Este es uno de los principales factores que determina los requerimientos de refrigeración durante el transporte y el almacenamiento.

La TR se ve afectada por factores intrínsecos (del producto) como: tipo de producto, genotipo, grado de madurez y composición química; y factores extrínsecos (externos al producto) como: temperatura, concentración de oxígeno, CO_2 , CO y etileno.

2.3. Producción de etileno

El etileno es una "hormona" vegetal que afecta al desarrollo de distintos procesos como son la maduración y senescencia de productos vegetales (Guillén, 2009). Tanto la producción de etileno como la respiración pueden presentar un comportamiento diferente durante el crecimiento, maduración y senescencia de un producto y que permite clasificarlos en frutos climatéricos y no-climatéricos.

- a- **Frutos climatéricos:** en ellos se percibe una disminución de la velocidad de respiración a valores mínimos denominado "*pre-climatérico*" seguido por un incremento, más o menos importante dependiendo de la especie, hacia un máximo conocido como "*pico climatérico*" y una subsecuente disminución de la velocidad de respiración considerado como "*postclimatérico*". Los valores de O_2 liberados y la velocidad de respiración por cada fruto o vegetal varían ampliamente: en manzanas la actividad respiratoria en el pico es aproximadamente el doble de la velocidad inicial, en banana el incremento es de diez veces, mientras que en durazno sólo es del 30%.

En frutos de tipo climatérico la velocidad de producción de etileno aumenta drásticamente con la respiración climatérica, hasta alcanzar un pico (**Figura 8**) para luego mantener un valor relativamente alto durante la maduración. Este pico de etileno, según el fruto, puede anteceder (banana), coincidir (mango, pera, palta) o ser posterior (manzana, tomate) al pico de respiración. Este incremento es esencialmente logarítmico, además se sabe que dicho proceso es autocatalizado por el propio etileno. En particular, la naranjilla ha sido caracterizada como fruto climatérico (Ramírez et al., 2018) dando como resultado, inmediatamente después de la cosecha un pico de respiración que alcanza 28 mg CO_2 /kg·h (Arango et al., 1999). Varios estudios se han enfocado en el crecimiento y desarrollo del fruto demostrando que existe un incremento en la respiración. Ahora bien, el tiempo que demanda desde la antesis hasta el pico climatérico depende en gran medida de la variedad y condiciones ambientales donde crece el fruto. Así, Almanza-Merchán et al. (2016) halló 110 días después de antesis (dda) para la variedad Chonto grueso y 120 dda para la variedad Criollo. Por otro lado, Ochoa-Vargas et al. (2016) halló un incremento de la respiración a los 180 dda para la variedad Septentrionale, indicando además que a los 160 dda se iniciaría la madurez fisiológica. Finalmente, Arango et al., (1996) mostraron que el preclimaterio se iniciaría en el estadio verde del fruto llegando al pico climatérico en el estadio de 100% amarillo. Se han encontrado valores de TR en frutos de naranjilla que oscilan entre 5 y 40 mg CO_2 /kg h (Forero et al., 2014). No obstante, son escasos los estudios que relacionan la producción de etileno y la tasa de respiración durante el periodo poscosecha de naranjilla.

En base a todo lo expuesto se podría definir como climaterio al período en la ontogenia de ciertos frutos y hortalizas durante el cual una serie de cambios bioquímicos son iniciados por la producción autocatalítica de etileno, marcando el cambio entre el crecimiento y la senescencia e implicando un incremento en la respiración y el comienzo de la maduración (Wills et al., 1999).

- b- **Frutos no-climatéricos:** Existen frutos y hortalizas que no presentan un incremento en la respiración, como así tampoco una producción acelerada de etileno durante la maduración, sino que más bien los niveles de este último son muy bajos (**Figura 8**). Ejemplos de estos frutos son: cítricos, frutilla, cereza, frambuesa, uva, berenjena, pimiento.

El etileno es una herramienta de gran utilidad en el manejo poscosecha de los frutos puesto que su aplicación en condiciones controladas puede ser empleada para acelerar cambios deseables en algunos productos. Este compuesto se emplea comercialmente (en forma directa o a través de su generación por descomposición de otros metabolitos) para promover la maduración de bananas y otros frutos, así como para provocar el deverdizado de la piel de cítricos (Abeles et al., 1992; Kader, 2007).

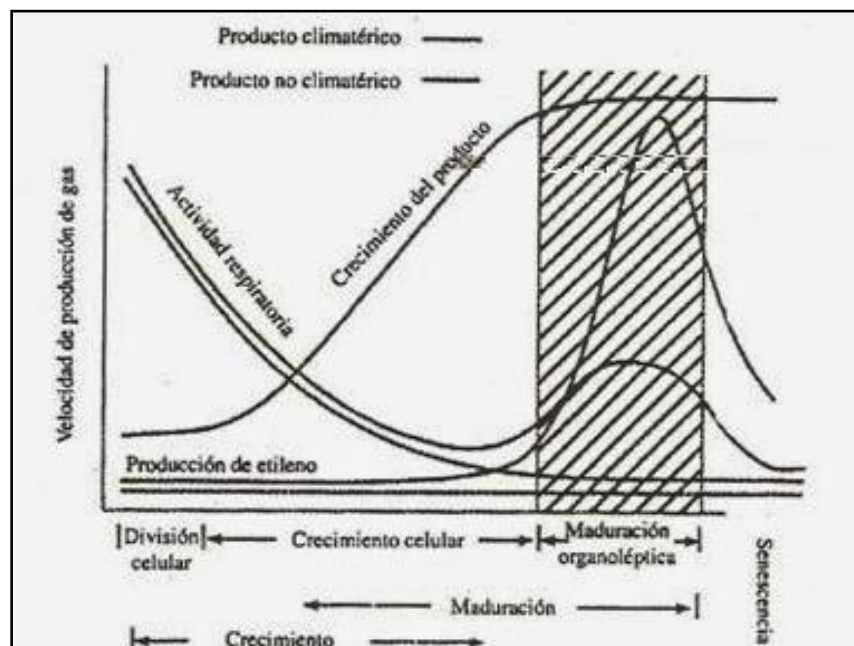


Figura 8 Patrón de respiración, crecimiento y producción de etileno para frutas climatéricas y no climatéricas (Fuente: Wills et al., 1999)

En otros casos, se requiere lentificar los procesos de maduración y/o senescencia, por lo que se requiere evitar su producción (refrigerar, evitar golpes o cortes), removerlo del entorno si es que el etileno se produjo (ventilar o reacción con otros compuestos), o bien inhibir ya sea su producción (refrigerar, mutantes) o su posterior acción (1-metilciclopropeno (1-MCP)).

2.3.1. Biosíntesis del etileno

1.1.1.1 El primer paso en la biosíntesis de etileno es la obtención de S-adenosil metionina (SAM), la cual resulta de la adición de adenina a la metionina (aminoácido esencial). Posteriormente, SAM se transforma en el ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) y 5'-metiltioadenosina (MTA), reacción catalizada por la enzima ACCsintasa (ACS), enzima de vital importancia ya que mantiene un rol protagónico en el proceso de regulación de producción de etileno en tejidos vegetales (Corpas y Tapasco, 2014). Debido a que la planta requiere permanentemente de etileno, se debe reiniciar el ciclo, de esta manera la MTA se recicla a metionina, por lo que sin importar las altas tasas de producción de etileno que pueda tener la planta, los niveles de metionina no se verán afectados (Abeles et al., 1992). Finalmente, el ACC, por acción de la enzima ACCoxidasa (ACO), es oxidado para formar etileno (**Figura 9**); esta enzima, presente en bajas proporciones en la gran mayoría de tejidos sufre incrementos en su cantidad a medida que aumenta la maduración de la fruta y en respuesta a la aplicación de etileno exógeno (Bradford, 2008). La enzima que controla la velocidad a la cual opera esta vía, la ACCsintasa requiere de fosfato de piridoxal como cofactor. Los inhibidores de las enzimas que requieren fosfato de piridoxal, tales como el AVG (aminoetoxivinilglicina) y el AOA (ácido amino oxiacético) pueden ser usados para inhibir la producción de etileno. El ión cobalto y los bajos niveles de oxígeno que inhiben el paso final en la vía, el de la ACC oxidasa, pueden también reducir la producción de etileno (Reid, 2007).

Factores ambientales, es decir diferentes tipos de estrés, como exceso de humedad, escasez de lluvias y malas manipulaciones influyen directamente en la síntesis y la actividad de la enzima ACCsintasa. Por otro lado, la ACO bajo condiciones aeróbicas y temperaturas menores de 35 °C, favorece la transformación a etileno. En concordancia con las situaciones de estrés mencionadas previamente, la cosecha de las frutas también provoca el incremento de ACC, ACO y de etileno (Jordán y Cassaretto, 2006).

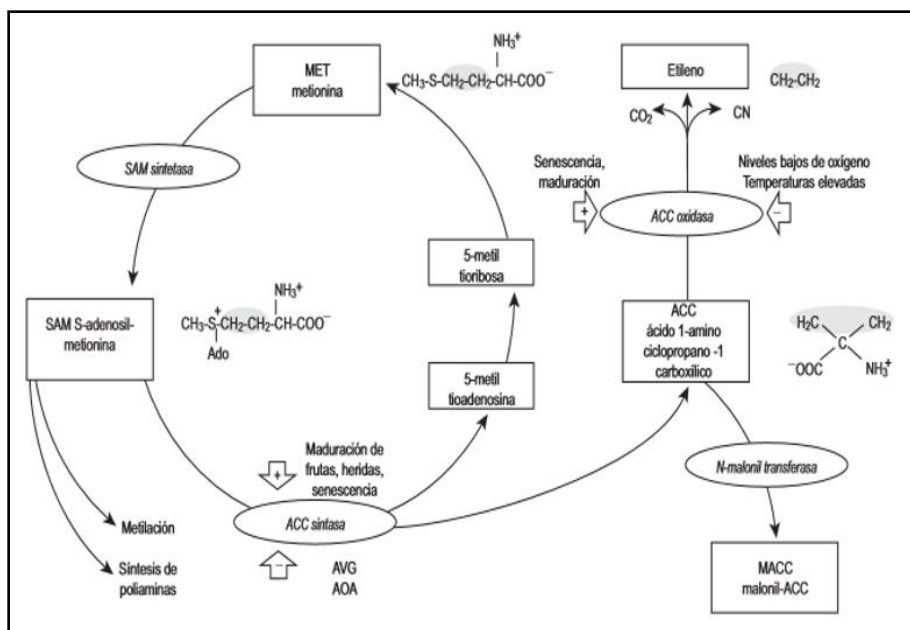


Figura 9 Mecanismo de biosíntesis del etileno en plantas

2.3.2. Modo de acción

El etileno controla procesos como la senescencia de los órganos, respuesta al estrés, germinación de la semilla, además de las interacciones con iones metálicos y otras hormonas, y ha sido identificado como la principal hormona que inicia y controla la maduración de la fruta. Para realizar todas estas funciones debe unirse a un receptor específico y así formar un complejo que iniciará la maduración de las frutas (Corpas y Tapasco, 2014). El mecanismo de acción del etileno indica que éste se debe unir a una proteína, en el sitio de unión específico, estimulando así la liberación de un segundo mensajero que instruye al ADN para formar moléculas de ARNm específicos para los efectos del etileno (**Figura 10**). Estas moléculas son traducidas en proteínas por los polisomas y las proteínas así formadas son las enzimas que causan las respuestas del etileno (Reid, 2007). La percepción del etileno en las células se realiza por medio de 5 receptores de proteínas: receptor de etileno 1 (ETR1), receptor de etileno 2 (ETR2), etileno insensitivo 4 (EIN4), sensor de respuesta de etileno 1 (ERS1) y sensor de respuesta de etileno 2 (ERS2), los cuales se unen al etileno con la ayuda de un cofactor de cobre en el dominio de la transmembrana (Stearns y Glick, 2003).

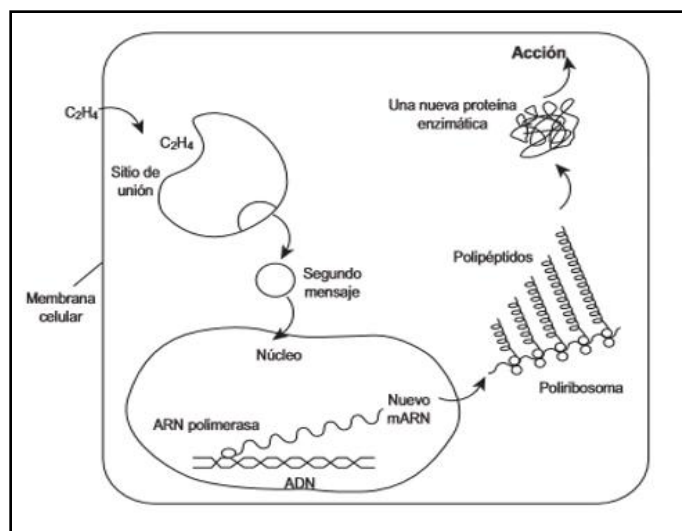


Figura 10 Mecanismo de acción del etileno

A nivel transmembrana, las proteínas receptoras de etileno poseen dos componentes de señalización: un sensor y un regulador de respuesta; por lo tanto, el papel que juega la proteína receptora en la señalización de etileno es de vital importancia ya que afecta la respuesta de etileno en tres puntos: biosíntesis, percepción y transcripción (McClellan y Chang, 2008).

2.4. Fitohormonas

Las hormonas endógenas no cesan su función luego de la cosecha sino que continúan involucradas, inician o promueven procesos fisiológicos como dormancia o rebrote de raíces, actúan como retardantes o promotores de crecimiento, entre otros. El etileno, auxinas, giberelinas, citoquininas, ácido abscísico y otras como poliaminas y jasmonatos son fitohormonas que pueden regular la expresión de genes que influyen sobre el comportamiento poscosecha de un producto.

Las auxinas son hormonas que intervienen en la maduración, su aumento produce adelanto de la maduración en frutos climatéricos mientras que en frutos no climatéricos la retrasa. Las giberelinas retrasan los procesos de maduración, producen un efecto antagónico con el etileno, disminuyen la actividad de enzimas poligalacturonasas (retrasa el ablandamiento). En los primeros estados del fruto, las citoquininas retrasan la degradación de clorofilas por lo que también retrasan la maduración. El ácido abscísico (ABA) inhibe el crecimiento, esta hormona se aumenta con el estrés; en frutos climatéricos el ABA produce adelantamiento de la maduración y en los frutos no climatéricos aumenta el proceso de deverdizado (Fahad et al., 2015).

3. ALTERACIONES FISIOLÓGICAS DE LOS FRUTOS DURANTE LA POSCOSECHA

Frente a condiciones ambientales adversas como temperatura, composición atmosférica y deficiencias nutricionales durante el crecimiento y desarrollo del fruto se producen alteraciones en los tejidos del fruto generando desórdenes fisiológicos y susceptibilidad al ataque de plagas o patógenos. Estos desórdenes fisiológicos se desarrollan o manifiestan durante la poscosecha.

La calidad requerida de la fruta y hortalizas dependerá del uso que vaya a tener para su consumo. La calidad poscosecha depende de factores precosecha y de una apropiada manipulación, procesado, empaque y venta al por menor. Los daños mecánicos, apariencia, pérdida de peso, textura, flavor y aroma decaimiento, pardeamiento y daño por frío son factores que limitan el tiempo de almacenamiento y la vida útil de un producto (Valero y Serrano, 2010) y serán analizados en detalle a continuación:

- **Apariencia.**- La compra de productos frescos está influenciada directamente por la apariencia de un producto que se caracteriza por la uniformidad de tamaño, forma y color. El consumidor busca un producto con ausencia de defectos en la forma o en la piel y sin enfermedades. De todas estas características el atributo que más destaca en la aceptabilidad de un alimento es el color que además se relaciona con su sabor y aroma. La apariencia de un fruto puede verse afectado por diferentes condiciones de temperatura y humedad durante el almacenamiento.
- **Pérdida de peso.**- Los productos frutihortícolas presentan un alto contenido de agua (más de 90%). Luego de la cosecha hay dos factores que favorecen la pérdida de peso: (1) la planta ya no provee de agua al fruto y (2) debido a la transpiración existe pérdida de vapor de agua que se elimina a través de los estomas y de la epidermis. La tasa de pérdida de agua durante la poscosecha depende de la presión de vapor del entorno en la que se encuentre el producto. También es relevante la relación superficie/volumen del producto, ya que los frutos esféricos (menor superficie/volumen) como manzanas o duraznos pierden menor cantidad de agua que cultivos de hoja como lechuga o acelga (mayor superficie/volumen). La pérdida de agua conduce a la disminución de la calidad del producto por pérdida de turgencia del tejido disminuyendo su aceptabilidad por parte del consumidor. En el caso de naranjilla, se observa un ablandamiento generalizado llegando a mostrar una apariencia de arrugado cerca del pedúnculo a altos niveles de pérdida de peso (**Figura 11a y 11b**).
- **Textura.**- Las propiedades de textura de un alimento incluyen características físicas como la sensación que se produce al tocar el producto que están relacionadas con la deformación, desintegración y flujo de alimento luego de aplicar una fuerza. Los cambios de textura que ocurren durante la poscosecha se producen por reacciones químicas de los componentes de la pared celular: la celulosa, hemicelulosa y

pectinas que hacen que el producto pierda firmeza. Un fruto blando en exceso presenta limitaciones en su vida de anaquel, almacenamiento y comercialización, ya que además será susceptible al ataque de microorganismos e insectos.

- **Sabor y aroma.**- Los compuestos responsables del sabor son generalmente no volátiles a temperatura ambiente, por ello muchas veces el sabor es un atributo ignorado por los consumidores, más bien se asocia al sabor con la dulzura del producto (concentración de azúcares medido como sólidos solubles totales (Brix) y la acidez). Durante la maduración existe un incremento de los azúcares originado por la hidrólisis del almidón y generalmente se produce una reducción de la acidez atribuido a que los ácidos orgánicos son sustrato del metabolismo respiratorio en algunos productos. Por otro lado, el aroma está dado por compuestos volátiles; el principal problema que se presenta durante la poscosecha es el desarrollo del off-flavor (presencia de olores/sabores defectuosos) que pueden estar asociados con sobremaduración y acumulación de etanol como producto de reacciones de fermentación.
- **Decaimiento.**- La presencia de ácidos orgánicos y la alta actividad de agua de un fruto lo convierte en un sustrato ideal para el crecimiento de mohos, levaduras y bacterias. Es por ello que deben evitarse deterioros innecesarios de los frutos tales como falta de higiene al empacarlos, cortes y golpes. Además de la importancia que tiene la presencia de microorganismos en la falta de inocuidad de un alimento, en productos frutihortícolas son los principales causantes de pérdidas poscosecha ya que un producto en el que sea visible el desarrollo de microorganismos es rechazado por el consumidor generando considerables pérdidas económicas. En el caso de naranjilla, se suele observar inicialmente decaimiento en el cáliz (**Figura 11c**). La contaminación de un producto vegetal puede producirse antes, durante o después de la cosecha y según las condiciones ambientales que rodeen al producto el desarrollo microbiano puede verse favorecido. Existe un amplio rango de factores que influyen sobre la ocurrencia del decaimiento y su severidad y pueden presentarse en la precosecha (tipo y cantidad de inóculo, cultivar, condiciones ambientales, grado de madurez a la cosecha), en la cosecha (aplicación de métodos manuales o mecánicos) y en la poscosecha (procesos de manipulación, condiciones de almacenamiento y tratamiento poscosecha aplicado).
- **Compuestos bioactivos.**- Durante el almacenamiento poscosecha se ha encontrado disminución del contenido de vitamina C, compuestos fenólicos y de la capacidad antioxidante, aunque este comportamiento varía según el tipo de producto y en algunos casos puede resultar contradictorio (Park et al., 2006; Kim et al., 2009). El interés en que los compuestos bioactivos se mantengan durante la poscosecha reside no sólo en que el producto frutihortícola constituya un alimento de alto valor nutritivo al ser consumido, sino también en que gracias a sus cualidades antioxidantes pueden

prevenir o retardar diversos deterioros fisiológicos ocasionados por especies reactivas de oxígeno (EROs).

- **Daño por frío.**- Cuando algunos productos de origen tropical y subtropical son expuestos a bajas temperaturas (superiores a las de su punto de congelación) sufren alteraciones conocidas como daño por frío cuyos síntomas comprenden alteraciones en el color, depresiones en la piel, maduración anormal, descomposición acelerada (susceptibilidad al ataque de microorganismos), entre otros. La naranjilla sufre daño por frío (**Figura 11d**), como así también palta, ananá, banana, berenjena, tomate, pepino, etc. El daño por frío se origina por alteraciones en la fluidez de las membranas y el estrés oxidativo causado por el incremento acelerado de EROs que no pudieron ser capturadas de forma eficiente por los propios sistemas antioxidantes enzimáticos y químicos. Generalmente, este tipo de daño se manifiesta luego de que el producto es retirado de la cámara de refrigeración y se expone a temperatura ambiente. Los productos frutihortícolas que sufren daño por frío presentan una vida comercial más corta que aquellos no sensibles, dado que la temperatura de conservación poscosecha no puede ser menor a 10 o 13 °C, dependiendo del producto, y con ello no pueden conseguirse mayores beneficios del empleo de la refrigeración. Los síntomas del daño por frío son propios de cada especie y pueden ser internos o externos. Sin embargo, estos en conjunto disminuyen la aceptación del producto por parte del consumidor resultando en pérdidas comerciales (Bosquez-Molina et al., 2008).

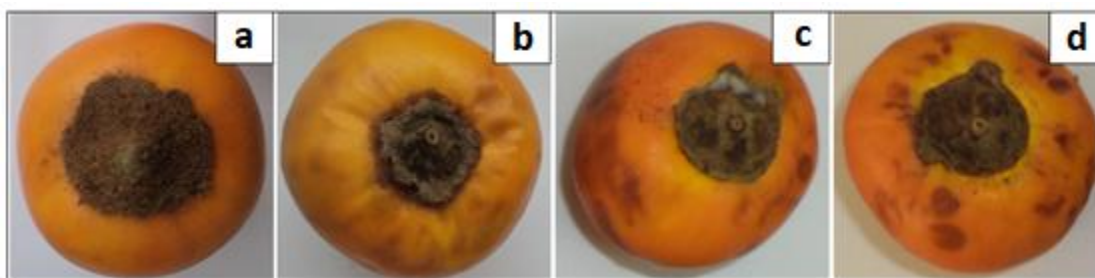


Figura 11 Alteraciones fisiológicas de naranjilla (a) recién cosechada, respecto de aquellos frutos que en la poscosecha presentan: (b) ablandamiento y pérdida de turgencia; (c) desarrollo visible de mohos y (d) síntomas de daño por frío

Cada producto tolera de forma diferente las condiciones a las que esté expuesto. Un adecuado conocimiento del comportamiento fisiológico del fruto (rol e interacciones que ocurren entre las fitohormonas, cambios en la concentración de nutrientes, actividad enzimática, entre otros) durante el periodo poscosecha y/o procesamiento permiten el desarrollo de tecnologías poscosecha que contribuyan a la preservación de la calidad de productos frescos y mejoras en su manipulación (Bartz y Brecht, 2003).

4. TECNOLOGÍAS POSCOSECHA

El manejo poscosecha cumple un rol complementario a las etapas de producción, ya que tiene la función de mantener la calidad de la fruta obtenida al momento de cosecha durante un periodo determinado, permitiendo la comercialización de fruta de buena calidad y condición en los mercados de destino (Kader, 2011).

El desarrollo, aplicación y rigurosidad en la implementación de las tecnologías de poscosecha son fundamentales en este resultado, ya que alteran las variables que afectan la calidad de la fruta y, por lo tanto, influyen directamente en los procesos de deterioro e inclusive en algunos casos pueden llegar a inducir problemas o desórdenes que no existían en el momento del embalaje.

Se han desarrollado tecnologías poscosecha en productos frutihortícolas que pueden aplicarse solas o combinadas. El empleo de la refrigeración es indispensable y en general se combina con otras tecnologías tales como: tratamientos térmicos, con calcio, con poliaminas y con 1-MCP (metilciclopropeno), empaque en atmósferas modificadas pasivas o activas, tecnologías emergentes como atmósferas con alta concentración de O₂ y radiación ultravioleta (Valero y Serrano, 2010). Algunas de ellas se detallan a continuación:

4.1. Uso de temperaturas

El uso de temperaturas bajas se ha considerado como una de las tecnologías más efectivas para extender el tiempo de vida útil de un producto frutihortícola fresco. Cada producto posee una temperatura óptima de conservación, por lo que se debe tener especial atención con aquellos que sufren daño por frío a temperaturas por debajo del rango óptimo ± 1 °C. Las temperaturas superiores generan tasas de respiración altas, mayor susceptibilidad de daño por la producción de altos niveles de etileno y la prevalencia de enfermedades (Kader, 2011). Los productos cosechados deben ser sometidos a las bajas temperaturas ya al ser transportados y en el posterior almacenamiento para maximizar su tiempo de vida útil. De esta manera se contribuye a disminuir la velocidad de las diversas reacciones metabólicas que conducen al deterioro del producto.

También se aplican tratamientos con altas temperaturas. La aplicación de estos tratamientos térmicos consiste en colocar a los frutos por un período variable a altas temperaturas (35-55 °C) utilizando agua, vapor o aire caliente (Lurie, 1998). Las condiciones óptimas de tratamiento dependerán del tipo de producto, variedad, grado de madurez, entre otros (Sui et al., 2016). Los tratamientos térmicos de alta temperatura se utilizan a nivel comercial para el control de plagas cuarentenarias (Lurie, 1998). El

tratamiento con vapor se ha empleado para el control de la mosca del Mediterráneo (*Ceratitis capitata* Wiedemann) y de la mosca mexicana (*Anastrepha ludens* Loew) en cítricos (Hawkins, 1932; Baker, 1952). Por otro lado, también fueron impulsados como técnica para extender la vida poscosecha de los frutos, fundamentalmente con el afán de encontrar alternativas a la utilización de agentes químicos. Se intenta utilizar mecanismos físicos que no dañan ni al producto ni al consumidor y que puedan resultar efectivos como otros productos químicos. En los últimos años se ha descrito que los tratamientos térmicos de alta temperatura pueden modificar numerosos aspectos vinculados con la fisiología de las frutas y hortalizas. La aplicación de TAT permitió inhibir la incidencia de escaldadura superficial en manzana (Huelin y Coggiola, 1970). Asimismo, otra alteración como el pardeamiento enzimático también fue reducida mediante la aplicación de tratamientos térmicos de alta temperatura en peras (Maxie et al., 1974) y lechuga (Saltveit, 2000). En brócoli se retrasó la senescencia y degradación de clorofilas aplicando tratamientos de 48 °C por 3 h en aire (Costa et al., 2005). Vicente et al. (2002) retrasaron el ablandamiento de frutillas al emplear un tratamiento a 45 °C por 3h en aire. También se ha logrado reducir el ablandamiento en manzanas (Klein et al., 1990; Porrit y Lidster, 1978) y tomate (Biggs et al., 1988). No obstante, las respuestas suelen depender del producto y cultivar analizado. Los cambios que ocasionan los TAT en la maduración, tales como la síntesis de etileno o la degradación de la pared celular, pueden ser debidos a alteraciones en la expresión de los genes. Las evidencias demuestran que el etileno es sensible al estrés por calentamiento; en este sentido, se logró determinar que temperaturas superiores a 35°C inhiben la maduración de muchas frutas, pero al mismo tiempo podrían ocasionar desórdenes fisiológicos y la inhibición irreversible de la síntesis de etileno (Paull y Chen, 2000).

4.2. Uso de la radiación UV-C

La radiación UV-C junto con otras tecnologías como el control biológico y las atmósferas con alto contenido de O₂ forman parte de las denominadas "tecnologías emergentes" que son estudiadas principalmente con el objetivo de controlar el deterioro microbiano en productos frescos y retrasar el desarrollo fúngico en poscosecha.

4.2.1. Espectro ultravioleta

La radiación ultravioleta (UV) fue descubierta por Ritter en 1801. Es un tipo de radiación no ionizante, que pertenece a la franja del espectro electromagnético con longitudes de onda entre 400 y 100 nm, aproximadamente. Se extiende desde la parte violeta del espectro visible hasta la zona de rayos X blandos, aunque ambos límites son arbitrarios. La intensidad (I) de radiación UV se expresa como

irradiancia o flujo de intensidad (W/m^2) y que al aplicarla por un determinado tiempo (t) termina estableciendo la dosis ($d = I * t$), que se expresa en J/m^2 . La región del espectro electromagnético que corresponde a la región UV puede ser dividida en tres partes: UV-A, UV-B y UV-C (Algaba, 2005; Alzamora, 2007; Koutchma et al., 2009; Valero y Serrano, 2010; Turtoi, 2013).

La radiación ultravioleta A (UV-A) abarca longitudes de onda entre 380 y 315 nm; es la parte menos energética de la radiación UV (3,1-3,9 eV). Tiene importancia por su capacidad para producir bronceado con un mínimo eritema cutáneo. Se emplea comercialmente para el bronceado de la piel y el tratamiento de la psoriasis.

La radiación ultravioleta B (UV-B) se extiende entre los 315 y 290 nm. No es útil para el bronceado, ya que a igual dosis que los UV-A, es 200-2.000 veces más probable que produzca eritema y quemaduras.

La radiación ultravioleta C (UV-C) se extiende entre los 290 y 100 nm; es la porción más energética del espectro, y se ha hallado que posee una importante acción germicida a los 254 nm. La luz UV-C sólo puede ionizar determinadas moléculas y en determinadas condiciones por lo tanto se considera como una radiación no ionizante. Los fotones UV-C tienen energía suficiente para destruir uniones químicas causando reacciones fotoquímicas que serían las responsables de los efectos biológicos que producen las radiaciones UV.

4.2.2. Efecto de la luz UV sobre los sistemas biológicos

Se ha comprobado que la aplicación de radiación UV-B afecta el sistema de defensa de las plantas e induce el incremento de metabolitos secundarios (Huyskens-Keil, et al., 2007). En comparación con UV-A y UV-B, la radiación UV-C es más efectiva por su efecto germicida y por ello para la esterilización de superficies (Nguyen et al., 2014), aunque también se ha logrado un efecto hormético indirecto que induce respuestas metabólicas en los diversos sistemas vegetales (Civello et al., 2006).

La radiación UV-C tiene un efecto letal y mutagénico sobre los microorganismos, que se debe a la absorción selectiva de longitudes de onda por parte de ciertas moléculas biológicas: las proteínas y el ADN. Los rayos UV provocan cambios químicos en las moléculas absorbentes, de modo que aparecen moléculas alteradas denominadas genéricamente fotoproductos. Los fotoproductos generados por la luz UV en el ADN derivan principalmente de alteraciones en las bases pirimidínicas (citosina, timina) y originan la inactivación de macromoléculas.

Las consecuencias de inactivar proteínas o ARN no son letales, ya que existen muchas copias de cada uno de estos tipos de macromoléculas y se pueden volver a sintetizar. En cambio, la inactivación del único cromosoma de la bacteria tiene efectos letales primarios y efectos mutagénicos secundarios. Por

lo tanto, el espectro de acción biológica de la luz UV-C equivale al de absorción del UV por el ADN (260 nm) (Rupp, 1996).

La radiación efectiva absorbida por el producto depende de algunos factores que incluyen: la rigidez de la pared celular, distribución de organelas, pigmentos intracelulares y la estructura y configuración de las moléculas en el momento de la irradiación.

En las células vegetales, el ADN particularmente es una de las moléculas blanco de la luz UV-C. Cuando la radiación UV-C es absorbida por esta molécula se produce la dimerización de timinas a través de una reacción fotoquímica (**Figura 12**), consecuentemente llevaría a una menor actividad biológica del ADN impidiendo una correcta replicación del ADN durante la reproducción celular (Sinha y Hader, 2002). Las proteínas que poseen grupos aromáticos que absorben a estas longitudes de onda también son dañadas por radiación UV. La luz UV-C produce también reacciones de fotooxidación en plantas a través de la producción de radicales libres y generación de especies reactivas de oxígeno. Los radicales libres y superóxidos cuando están en alta concentración en los tejidos pueden dañar membranas celulares, ácidos nucleicos, pared celular y proteínas.

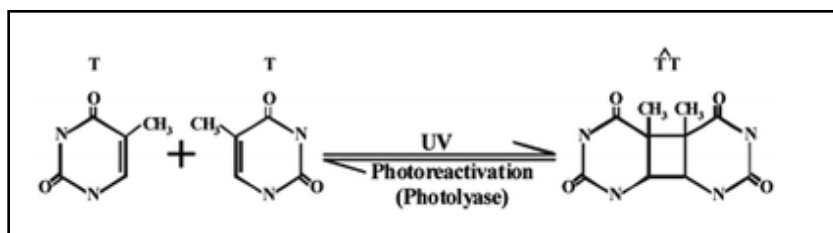


Figura 12 Dimerización fotoquímica de la timina inducida por la radiación UV

Los fotones de luz UV-C son absorbidos por las clorofilas; la energía absorbida es utilizada por los electrones de las moléculas para pasar a un nivel de mayor energía (electrones excitados) generando radicales libres. Un exceso de radiación UV-C daña la estructura de los cloroplastos ya que desorganiza los tilacoides y produce una progresiva desorganización de los complejos pigmento-proteínas y de la doble membrana de cloroplastos. Se ha demostrado que este daño es producido por una excesiva acumulación de radicales libres, principalmente hidroxilos y metilos, como consecuencia de la situación de estrés (Hideg y Vass, 1996).

Cuando las plantas son sometidas a una situación de estrés con luz UV-C, se produce una reorganización de la estructura de las células vegetales, aparece una acumulación de carotenoides secundarios: se forman cuerpos lipídicos que contienen carotenoides, primero dentro de los cloroplastos que luego se convierten en cromoplastos y se ubican en la periferia de las células y finalmente forman una capa

lipídica rica en carotenoides secundarios dentro de la pared celular. La capa lipídica cumple funciones de filtro de luz, protege a los componentes celulares del daño fotooxidativo y de las pérdidas de agua (Barth y Zhuang, 1996).

De acuerdo a Lado y Yousef (2003) y Cisneros-Zevallos (2003), el exceso de radiación induce la producción de radicales libres (radicales hidroxilo a partir del agua), los cuales generan una respuesta en el tejido de la planta (estimular un sistema antioxidante, por ejemplo) de modo que el tejido pueda adaptarse a la nueva situación de estrés. No obstante, si la producción de radicales libres supera a los mecanismos de defensa entonces se producirá daño que puede llegar a ser irreversible. Si bien las radiaciones UV-C en exceso pueden resultar perjudiciales para los tejidos, si se utilizan bajas dosis o más precisamente dosis adecuadas se pueden lograr determinados efectos benéficos en los tejidos.

4.2.3. Uso de la radiación UV-C en la industria de alimentos

La primera aplicación de radiación UV como proceso de desinfección en agua para bebida fue en 1910 en Marsella, Francia (Hijnen et al., 2006). Como tecnología en la industria de alimentos la luz ultravioleta ha sido conocida desde hace más de 60 años, utilizada principalmente para desinfectar superficies (Valero y Serrano, 2010). Desde 1999, la FDA considera a los tratamientos con radiación UV-C como tecnologías alternativas para la eliminación de bacterias patógenas en jugos de fruta y los productos se designan como "procesado con luz" (López-Malo y Palau, 2005; Manzoco et al., 2011).

La radiación UV-C (longitud de onda corta, 254 nm) es llamada "UV germicida". Este efecto depende de la resistencia natural de los microorganismos a este tipo de radiación y está determinado por la habilidad de reparar el ADN deteriorado. Generalmente la resistencia de microorganismos presenta el siguiente patrón: bacterias Gram negativos < bacterias Gram positivos < levaduras < bacterias esporuladas < mohos < virus (Hijnen et al., 2006).

Según explican López-Malo y Palau (2005), para lograr la reducción de una población microbiana entre 1 y 4 ciclos logarítmicos se debe tomar en cuenta la variabilidad de las especies, el estado de crecimiento de la población, las condiciones de irradiación UV de onda corta, concentración de solutos y el tipo de lámpara UV (de onda corta). Estudios publicados hasta el año 2000 presentaban tres categorías como potenciales aplicaciones de la radiación UV-C: (1) inhibición de microorganismos en superficies, (2) destrucción de microorganismos del aire y (3) desinfección de líquidos. La mayor desventaja de la radiación UV-C es su falta de penetración, entonces los microorganismos que son desactivados son aquellos que están expuestos directamente a los rayos mientras que otros pueden estar protegidos por sólidos como partículas, polvo y cubiertas (Turtoi, 2013).

Desde la década de 1970 se registra el uso de radiación UV-C para el control de microorganismos en la superficie de pescado fresco (Huang y Toledo, 1982), cáscaras de huevos (Kuo et al., 1997), carne (Stermer et al., 1987) y canales de aves (Wallner-Pendleton et al., 1994), entre otros. Posteriormente se extendió su uso a la desinfección de alimentos líquidos como jugos de fruta (Char et al., 2010; Franz et al., 2009; Guerrero-Beltrán et al., 2004).

4.2.4. Uso de la radiación UV-C para el tratamiento de frutas y vegetales

Además de la comprobada eficacia de la radiación UV-C como efecto directo sobre los microorganismos de superficies, se ha demostrado que dosis bajas de luz UV-C pueden inducir diversas respuestas que se inician con la aplicación de la radiación UV y continúan durante un tiempo posterior, incluyendo resistencia a patógenos, reducción del decaimiento en frutos y activación de otros procesos metabólicos (Shama y Alderson, 2005; Civello et al., 2007). En los últimos años se han realizado amplios estudios con el fin de conocer los efectos que produce este tratamiento sobre el metabolismo de diversos productos. Se ha estudiado la regulación de genes involucrados en la transducción de señales, respuesta de defensa y metabolismo general; se ha visto que genes relacionados con la fotosíntesis, metabolismo de lípidos y desamblaje de pared celular, entre otros, fueron negativamente afectados por la radiación UV-C (Ben-Yehoshua, 2003; Rudell et al., 2009; Liu et al., 2011).

Por otro lado, cuando se utiliza una dosis óptima de luz UV-C se induce la síntesis de fitoalexinas, compuestos que juegan un rol importante en la resistencia a enfermedades en muchos sistemas vegetales y activa genes que codifican proteínas relacionadas con la patogénesis (Turtoi, 2013). Dicha síntesis de los compuestos se inicia con el tratamiento de la radiación, persiste en los días subsiguientes y no sólo se da en la zona irradiada, sino que se manifiestan en el fruto entero (Shama y Alderson, 2005). Es una tecnología que no requiere un equipamiento sofisticado, que es fácil de usar, no deja residuos en el producto y es letal para la mayoría de los microorganismos. Sin embargo, son necesarios más estudios para optimizar las dosis o formas de aplicación de la radiación UV-C en los diversos productos frutihortícolas (Artés et al., 2009).

Numerosas investigaciones han sido dirigidas a evaluar el efecto de diferentes dosis de radiación UV-C y el tiempo de almacenamiento sobre las características fisicoquímicas, microbiológicas y antioxidantes de frutos enteros y mínimamente procesados, principalmente aquellas que no se encuentran comúnmente en mercados globales y su consumo regular está relacionado con efectos benéficos para reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares, envejecimiento y procesos degenerativos atribuidos a la presencia de compuestos bioactivos como vitamina E y C, carotenoides, polifenoles, antocianinas, entre otros, cuya forma de actuación se basa en la inhibición, la iniciación o propagación de las reacciones de

oxidación de forma que se evite o retrase el daño oxidativo (Márquez-Villacorta y Pretell-Vásquez, 2013).

Se ha evaluado también el efecto de la radiación UV-C sobre procesos fisiológicos como la maduración, retraso de la pérdida de firmeza y atributos sensoriales de los productos durante el almacenamiento (Robles et al., 2007); variación del contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante (Liu et al., 2011), así como también cambios en la actividad de enzimas antioxidantes (Andrade-Cuvi et al., 2011) y aquellas relacionadas con reacciones de pardeamiento (Charles et al., 2009). Todos los estudios buscan incrementar la vida de anaquel de los productos frutihortícolas y que mantengan buenas características nutricionales. También se ha estudiado el uso de la luz UV-C como una tecnología para retrasar o reducir el daño por frío en frutas tropicales y subtropicales, así como los procesos fisiológicos asociados con esta patología que produce altas pérdidas económicas durante la poscosecha debido al almacenamiento de los productos en temperaturas menores a las recomendadas. En este sentido, la aplicación de dosis bajas de radiación UV-C ha producido efectos positivos en diferentes productos como pimiento rojo (Vicente et al., 2005), durazno (González-Aguilar et al., 2004; Jin et al., 2009), mango (González-Aguilar et al., 2001), banana (Pongprasert et al., 2011), entre otros. Se estudia también el modo de acción de la radiación UV-C para reducir el estrés oxidativo y la relación con el daño por frío en diferentes sistemas vegetales (Ding et al., 2007; Andrade-Cuvi et al., 2011; Pongprasert et al., 2011a). Varios autores han relacionado estas respuestas benéficas para el fruto como un efecto hormético producido por esta tecnología. En el año 1980, Luckey (1980) introdujo el concepto de “hormesis”, definido como la estimulación de un efecto beneficioso en los tejidos de las plantas en respuesta a dosis bajas o subletales de un agente causante de estrés físico o químico, en este caso la radiación UV.

La dosis de radiación UV-C a la que es expuesto un alimento definirá el efecto producido en este. Numerosas investigaciones señalan que la aplicación de luz UV-C para desinfección de alimentos ha sido fuertemente asociada con la pérdida del valor nutricional y apariencia indeseable. Como se mencionó anteriormente, y depende de su capacidad de penetración ya que la luz UV-C no es efectiva en la sombra en poros y orificios siendo necesario que la unidad UV-C o el equipo esté colocada lo más cerca al objeto a tratar (Gardner y Shama, 2000). Luego del tratamiento

Por otro lado, Civello et al. (2006) y Guerrero-Beltrán y Barbosa-Cánovas (2004) indican que la luz UV-C actúa directa o indirectamente a todos los componentes celulares. Altas dosis de radiación pueden afectar a las proteínas, al ser absorbido por compuestos fotoactivos permite la formación de EROs involucrados en el entrecruzamiento oxidativo de proteínas de las paredes celulares, ácidos nucleicos y en consecuencia alterar membranas promoviendo el daño celular y de tejidos. Asimismo, señalan otros

efectos adversos producidos por acción de la radiación UV-C como el incremento del pardeamiento por oxidación de fenoles a quinonas, peroxidación de lípidos, daño de membranas, decoloración del caliz y deshidratación superficial, entre otros.

Existe una amplia variedad de respuestas bioquímicas que produce la radiación UV-C sobre productos frutihortícolas frescos, estas respuestas varían entre genotipos, etapas de maduración, dosis del tratamiento y condiciones de almacenamiento (Rivera-Pastrana et al., 2007). En particular, no se ha evaluado el empleo de esta tecnología en productos como naranjilla y sus microorganismos asociados. Por ello, en el presente trabajo de tesis se evalúa la aplicación de esta tecnología en los capítulos II y IV.

4.3. Uso de 1-metilciclopropeno (1-MCP)

El 1-MCP ha demostrado una acción específica, pero reversible, en suprimir la respuesta al etileno, con un modo de acción inocuo para el ser humano, demostrando su efecto al retrasar la senescencia de las flores, y maduración y senescencia de frutas y hortalizas y extendiendo así su vida poscosecha. Comercialmente se lo conoce como Ethylbloc® cuando es aplicado en flores, y como Smartfresh™ (Agro-Fresh, Inc., una división de Rohm and Haas) cuando se lo aplica en frutos (Guillén, 2009), según se observa en la **Figura 13**.



Figura 13 Fórmula química y presentación comercial del 1-MCP (Ethyl Bloc y Smart Fresh)
<https://www.agrofresh.com/technologies/>

Está registrado para su uso en frutas y hortalizas en Estados Unidos, Argentina, Chile, Nueva Zelanda, México, Sudáfrica, Colombia, Brasil, Costa Rica, Guatemala, Israel, Reino Unido y está en trámite, pendiente del registro, en Europa, Japón, Corea y Canadá. En Argentina se ha aprobado para manzana, pera, ciruela, kiwi, cítricos y tomate. En Ecuador está aprobado su uso para el control de la senescencia de flores de acuerdo a la Decisión 436 de la Comunidad Andina (Martínez-Macías, 2015).

Las marcas comerciales de 1-MCP que se encuentran en el mercado son el resultado de una serie de experimentos enfocados en inhibir la acción del etileno. En 1972, Edward Sisler sintetizó varias olefinas y otros compuestos orgánicos con propiedades afines al etileno, uno de esos compuestos fue el 2,5-

norbornadieno, el mismo que inhibió la acción del etileno, sin embargo, la fruta debía estar expuesta continuamente a altas concentraciones de este compuesto (Sisler, 2006). Posteriormente en la década de los 80's, utilizando una técnica denominada "activación de marcadores" sintetizó una diolefina cíclica con un grupo diazo adjunto, llamada diazociclopentadieno (DACP) que resultó ser efectivo para inhibir el etileno a bajas concentraciones, que no pudo ser utilizado por ser tóxico y explosivo (Blankenship y Sisler, 1993). Para que DACP se active debía ser expuesto a luz fluorescente produciéndose su descomposición en moléculas más pequeñas, una de las cuales debía ser el principio activo; en efecto, uno de esos compuestos, el 1 metilciclopropeno (1-MCP) es un gas que resultó ser muy efectivo en la inhibición del etileno (Reid y Staby, 2008). Finalmente, un gran avance en la comercialización del 1-MCP (**Figura 13**) fue la formulación en polvo de una ciclodextrina que contiene el 1-MCP (Smart Fresh) y el cual es fácilmente liberado como un gas cuando se disuelve el polvo en agua (Watkins, 2006).

4.3.1. Modo de acción

El 1-MCP es un inhibidor muy efectivo de la acción del etileno (Reid y Staby, 2008). Se ha demostrado en frutas como peras, kiwi, banana, manzanas, aguacates, mangos, entre otros, que este compuesto se une irreversiblemente a los receptores del etileno en los tejidos sensibles de la planta y que, con bajas concentraciones, un tiempo de exposición corto y a temperatura ambiente confiere una protección frente a la acción del etileno por varios días (Ekman et al., 2004).

Este compuesto químico se aplica en forma gaseosa por cortos períodos de tiempo (menores a 24 h), no es tóxico y prácticamente no deja residuos en los frutos cuando se usa en muy bajas concentraciones (Valero y Serrano, 2010). Actúa en el proceso natural de maduración, ligándose al receptor en los tejidos de los frutos que normalmente se ligaría con el etileno; por lo tanto, la unión del etileno es inhibida y de esta manera no promueve la maduración y senescencia de los frutos; logrando así una maduración lenta que favorece a la conservación de la calidad por mayores períodos de tiempo (Sisler, 2006). La afinidad del 1-MCP por los receptores de etileno es aproximadamente 10 veces mayor que el etileno (Blankenship y Dole, 2003).

Con la aplicación del 1-MCP también se ha comprobado que las enzimas ACC-sintasa (ACS) y ACC-oxidasa (ACO) reducen su actividad, además se bloquean los receptores de etileno y se retrasa la biosíntesis de nuevos receptores. Otros estudios cinéticos, en su afán de descifrar la naturaleza y la multiplicidad de los sitios no receptores para la absorción del 1-MCP, se han concentrado en aspectos como la tasa y capacidad de absorción de diversos tejidos, análisis de componentes celulares como grasa, almidón, polisacáridos y ligninas, para de esta manera determinar si las propiedades absorbentes de estos constituyentes son consistentes con la absorción específica de los tejidos (Choi y Huber, 2009).

Si bien es cierto que no se ha llegado a una conclusión con respecto a la influencia de los sitios no receptores sobre la absorción del 1-MCP, si se ha determinado su relación con algunos componentes de la planta. Se determinó que la unión a la lignina es irreversible, entonces es poco probable que ese 1-MCP pueda participar en la regulación de la percepción de etileno, y por otro lado, el 1-MCP absorbido por la grasa probablemente tiene una mínima importancia biológica debido a la rápida desgasificación en la transferencia del 1-MCP en ambientes libres. Además, la liberación del 1-MCP a partir de los sitios no específicos podría explicar, en parte, por qué los efectos y la recuperación de 1-MCP varían tanto entre los tipos de frutas y la etapa de madurez al momento del tratamiento (Huber, 2009).

4.3.2. Respuesta fisiológica de las frutas frente al 1-MCP

El 1-MCP provoca cambios, en muchos casos beneficiosos, pero en ciertas ocasiones también provoca desórdenes fisiológicos en frutas y hortalizas

a) *Metabolismo del etileno.*- Conociendo que el 1-MCP es un inhibidor de la acción del etileno, la efectividad del mismo en la inhibición de la maduración o la senescencia de la fruta, depende directamente de la concentración aplicada, hasta la saturación de los sitios de unión (Watkins, 2006). El tiempo de acción del 1-MCP se ve afectado tanto por la especie, el tejido y el modo de inducción de la biosíntesis de etileno. Por lo tanto, para contrarrestar estos cambios es necesario un mayor tiempo de exposición para concentraciones menores de 1-MCP (Sisler y Serek, 1997).

b) *Tasa de respiración.*- La tasa de respiración de los productos tratados con 1-MCP se disminuye o retrasa, especialmente en frutas climatéricas, en las que un incremento en su tasa de respiración significa también un incremento en la producción de etileno (Jeong et al., 2004).

c) *Metabolismo de pigmentos.*- El cambio de color en las frutas, es decir, el paso de un color verde al color característico de la fruta, es inhibido por el 1-MCP ya que estas reacciones serían catalizadas por el etileno constituyendo una de sus “acciones”. Para algunas frutas la pérdida de clorofila y el desarrollo de pigmentos coloreados es un aspecto esencial de maduración, por lo tanto el exitoso uso del 1-MCP permitirá un retraso, pero no una inhibición irreversible del proceso encargado de la metabolización de pigmentos como antocianinas y carotenoides ya pre-existentes (Kays, 1997).

d) *Desarrollo de desórdenes fisiológicos.*- Los principales desórdenes fisiológicos que son retrasados notoriamente debidos al efecto del 1-MCP como inhibidor del etileno están asociados a la senescencia, presencia de lanosidades superficiales en duraznos y nectarines, así como susceptibilidad al daño por frío, pardeamiento interno, presencia de escaldaduras superficiales, entre otros (Watkins, 2006).

e) *Parámetros de calidad del fruto.*- En los frutos climatéricos todos los parámetros de calidad son dependientes del etileno como la firmeza, color, concentración de sólidos solubles, pérdida o retraso de acidez, y todas en conjunto están relacionados con la pérdida de peso. Por otro lado, se conoce que existen cambios en la actividad de enzimas de la pared celular que se producen por la aplicación de 1-MCP, efecto que ha sido demostrado en tomate (Itai et al., 2003; Mostofi et al., 2003; Beno-Moualem et al., 2004), banano (Lohani et al., 2004), durazno (Mwaniki et al., 2005; Khan et al., 2009), entre otros. El color es otro de los atributos de calidad que se ve afectado con la aplicación de 1-MCP ya que este compuesto previene o retrasa la degradación de la clorofila. Otro claro efecto, ha sido la retención de la acidez durante el almacenamiento poscosecha en albaricoque, pera, tomate y aguacate. El índice de madurez (relación de sólidos solubles y la acidez titulable) se ha visto reducido en los frutos tratados con 1-MCP con respecto a los frutos no tratados. En cuanto a la pérdida de peso los resultados varían según la especie, el tratamiento con 1-MCP redujo la pérdida de peso en aguacate y produjo un aumento en peras (Watkins, 2006). Se sabe también que el etileno afecta a la síntesis de compuestos volátiles disminuyendo o alterando su producción; en algunos productos existen compuestos volátiles que alteran al aroma y son asociados con sobremaduración por lo que su inhibición sería deseable (Argenta et al., 2003). Otro aspecto a tener en cuenta es que se podría cosechar fruta demasiado temprano con el objeto de maximizar la respuesta al 1-MCP, sacrificando otros atributos de calidad. La fruta cosechada temprano puede tener un bajo desarrollo de sabor, y esto puede posteriormente estar agravado por la aplicación de 1-MCP.

En el caso de las peras, existe una gran limitación en la aplicación del 1-MCP, ya que sólo alcanzan su calidad gustativa cuando se ablandan. Como aún no se ha logrado revertir los efectos del 1-MCP mediante la exposición al etileno, los tratamientos deberían ser aplicados de forma tal que la fruta pueda madurar normalmente luego de un período de conservación. La concentración utilizada y la duración de la conservación, así como la madurez de los frutos en el momento del tratamiento, influyen en la cantidad de tiempo necesaria para que los frutos reanuden la maduración (Calvo, 2003).

f) *Compuestos bioactivos y actividad antioxidante.*- Se ha estudiado el efecto del 1-MCP en varios productos frutihortícolas encontrándose principalmente reducción de ácido ascórbico en manzanas, duraznos, piñas y tomate (Vilaplana et al., 2006), mientras que se encontró un incremento en la capacidad antioxidante en cereza dulce, además se reportó mayor contenido de compuestos fenólicos y no se vio afectada la concentración de antocianinas (Mozetic et al., 2006). También se han encontrado cambios en la actividad enzimática de catalasa, superóxido dismutasa y ascorbato peroxidasa, lo que sugiere que el 1-MCP estaría influyendo en la producción de especies reactivas de

oxígeno (Guillén 2009; Wang et al., 2009a; Yuan et al., 2010; Djanaguiraman et al., 2011; Sun et al., 2012).

4.3.3. Efecto del 1-MCP sobre desórdenes fisiológicos y patológicos

Durante el almacenamiento los productos frutihortícolas frescos pueden presentar desórdenes fisiológicos, mecánicos y patológicos. Estos desórdenes se expresan luego de la cosecha, pudiendo existir una superposición entre la pre- y pos- cosecha. Los factores precosecha incluyen: el clima, grado de madurez en la cosecha, nutrición del cultivo y prácticas de agricultura, e influyen sobre la tolerancia de los productos al estrés poscosecha (Watkins, 2007). Estos desórdenes se manifiestan a través del daño del tejido y por la acumulación de metabolitos tóxicos indeseables y pueden alterar el metabolismo asociado con la madurez y senescencia; generalmente los daños fisiológicos y mecánicos conducen al tejido a ser susceptible al ataque de microorganismos presentando infecciones secundarias. Los desórdenes fisiológicos que son reducidos por acción del 1-MCP son aquellos que están relacionados con el etileno, entre los que se puede nombrar, por ejemplo, la aparición de manchas rojizas en lechugas, aparición de sabor agrio en zanahorias, aparición de líquido en la pulpa de sandía debido al ablandamiento de los tejidos del endocarpo y placenta producido por pérdida de solutos, degradación de pectinas, separación celular y pérdida de la rigidez de la pared celular. El tratamiento con 1-MCP disminuiría la severidad de estos síntomas probablemente por producir menor peroxidación lipídica como consecuencia de una menor actividad de enzimas asociadas a la degradación de la membrana celular como fosfolipasas C y D y lipooxigenasas (Mao et al., 2004; Valero y Serrano, 2010).

También, la incidencia de enfermedades, es decir la susceptibilidad de los frutos al ataque de microorganismos, depende de la dosis aplicada de 1-MCP. Se ha comprobado que altas dosis del compuesto producen daño en el tejido haciéndolo más susceptible para el desarrollo microbiano. Según explican varios autores (Marcos et al., 2005; Sozzi y Beaudry, 2007), la sensibilidad presentada por el tejido es beneficiosa contra cierto tipo de patógenos, ya que bajas cantidades de etileno endógeno son necesarias para mantener niveles básicos de resistencia al estrés ambiental y biológico estando involucrados en la regulación de genes de defensa de las plantas. Es importante estudiar la interacción huésped-patógeno-ambiente, que es una interacción extremadamente compleja, que debe observarse bajo las condiciones de laboratorio y de la industria; en este sentido el 1-MCP puede actuar en diferentes niveles tanto en el huésped como en el complejo huésped-patógeno. El ataque microbiano se ve favorecido por heridas, cortes o contusiones en la superficie del tejido por lo que una tecnología que ayude a reducir el daño estructural manteniendo la integridad de la membrana facilitará el control de los desórdenes patológicos.

El pardeamiento del tejido, la aparición de escaldaduras superficiales y la descomposición interna son síntomas de desórdenes relacionados con la madurez y senescencia, por lo tanto, la aplicación del 1-MCP inhibe o retrasa el desarrollo de estos desórdenes, no obstante, incrementa la sensibilidad a otros como el daño producido por CO₂.

4.3.4. Combinación con otras tecnologías

Desde hace ya varios años se propone el uso del 1-MCP, basado en el control de la maduración del producto, como una tecnología poscosecha que se aplica en muchos países siendo complementaria con el uso de la temperatura y humedad relativa adecuadas pudiendo reemplazar o combinarse con atmósferas controladas o radiación UV-C (Lum et al., 2017; DeEll et al., 2016; Rizzolo et al., 2014). Se observó que la mayoría de las variedades de peras y manzanas tratadas con 1-MCP se conservan de manera similar en frío convencional como si lo hicieran en atmósfera controlada (hasta 6 meses). Sin embargo, la combinación de atmósfera controlada y 1-MCP es la que provee la mejor calidad de fruta al finalizar la conservación (Lum et al., 2017). También se ha evaluado el uso combinado del 1-MCP con tecnologías como calor, óxido nítrico, radiación UV-C, almacenamiento en atmósfera con bajo contenido de etileno, atmósfera controlada y etileno, entre otros, observándose en general la sinergia entre los tratamientos combinados logrando retrasar la maduración, mantener la firmeza, retrasar la tasa de respiración y reducir la producción de etileno y en consecuencia prolongar el tiempo de almacenamiento de productos como duraznos (Huan et al., 2016), arándanos (Gergoff-Grozeff et al., 2017), tomates (Pristijono et al., 2017), kiwis (Yommi et al., 2016) y bananas (Zhu, et al., 2016).

En resumen, el 1-MCP constituye una herramienta adicional, que permite a los empacadores una mayor flexibilidad en el manejo de la fruta después de la cosecha. Su potencialidad se extiende desde conservar la fruta más tiempo o con una mejor calidad, hasta reducir los costos necesarios para la conservación, ya que ofrece beneficios en regiones donde no hay suficientes facilidades de atmósfera controlada. El empleo de 1-MCP es especialmente valioso cuando se desean transportar productos por largas distancias manteniendo la calidad de fresco para satisfacer a los consumidores, reduciendo el desperdicio y permitiendo acceder a mercados nuevos y distantes.

Su empleo en frutos de naranjilla no ha sido evaluado, por lo que en el presente trabajo de Tesis se analiza en los capítulos III y IV.

5. RESPUESTAS DE TEJIDOS VEGETALES ASOCIADAS AL ESTRÉS BIOTICO Y ABIOTICO

5.1. Especies reactivas del oxígeno y estrés oxidativo

Durante el cultivo o una vez que el fruto es cosechado se encuentra expuesto a diferentes tipos de estrés abiótico (como alta y bajas temperaturas, variación de humedad, salinidad, radiación UV, concentración de nutrientes, daño mecánico, disminución parcial de oxígeno, entre otros) y biótico (plagas y patógenos que incluyen hongos, bacterias, virus, nematodos e insectos herbívoros), induciendo una respuesta de defensa que está asociada a un complejo sistema celular y molecular (Atkinson y Urwin, 2012; Hideg, 2004; Blokhina et al., 2003) como la producción de especies reactivas de oxígeno (EROs).

Las EROs son el oxígeno singulete (1O_2), el anión superóxido (O_2^-), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo (OH^\cdot). Todas las especies pueden provocar la oxidación de lípidos constituyentes de las membranas, particularmente actuando sobre los ácidos grasos insaturados como linoleico (18:2) y linolénico (18:3). También pueden provocar la degradación de proteínas, ácidos nucleicos y nucleótidos. Las EROs se producen normalmente como parte del metabolismo celular, sin embargo, la exposición a factores de estrés puede hacer que se produzcan en niveles elevados. Una alta concentración de EROS resulta citotóxica para cualquier organismo ya que estas sustancias pueden reaccionar con ácidos grasos insaturados y causar peroxidación de lípidos de membrana celular o membranas de organelas intracelulares. El daño de membranas intracelulares puede influir en las reacciones de respiración de la mitocondria. También altas concentraciones de EROs pueden afectar el sistema fotosintético produciendo fotoinhibición (Mittler, 2002; Zimmermann y Zentgraf, 2005).

Cuando la concentración de EROs supera la capacidad del sistema antioxidante de secuestrar y neutralizar estas moléculas, el tejido se encuentra en un estado de “estrés oxidativo” que se describe como un desbalance en el que hay un aumento de oxidantes o una disminución de antioxidantes, en comparación con la situación definida como normal (Sies, 1985). En el ser humano el estrés oxidativo está asociado a numerosas patologías como aterosclerosis, cáncer, diabetes, enfermedades autoinmunes (Mayor-Oxilia, 2010), mientras que en plantas se ha relacionado con daños secundarios a las membranas y fotosistemas.

En los sistemas vegetales se observan dos tipos de respuesta frente al estrés. Por un lado, el control de los niveles de EROs promoviendo la protección celular bajo condiciones de estrés a través de algunas enzimas secuestradoras de EROs y que tienden a degradar particularmente el H_2O_2 del tejido para mantener el sistema reducido (superóxido dismutasa –SOD-, catalasa –CAT-, peroxidasa –POX-

glutación reductasa –GR- y ascorbato peroxidasa -APX-), de detoxificación de productos de peroxidación lipídica (glutación S-transferasas, entre otros) y una red de compuestos antioxidantes de bajo peso molecular (ácido ascórbico, glutación reducido, tocoferoles, compuestos fenólicos y carotenoides). Y por otro lado, se generarían EROs como moléculas de señalización para controlar procesos que incluyen la defensa de patógenos, muerte celular programada y comportamiento de estomas (Blokina et al., 2003; Apel y Hirt, 2004).

La inactivación del oxígeno singlete (1O_2) se produce fundamentalmente con la participación de carotenoides, los que disipan el exceso de energía como calor, y el α -tocoferol. Este último también puede reaccionar con anión superóxido inactivándolo. Por lo que concierne al radical hidroxilo, las poliaminas, son prioritarias para reaccionar con dicho radical (**Figura 14**). Los compuestos fenólicos, de gran diversidad estructural, también participan del secuestro de diversos radicales libres.

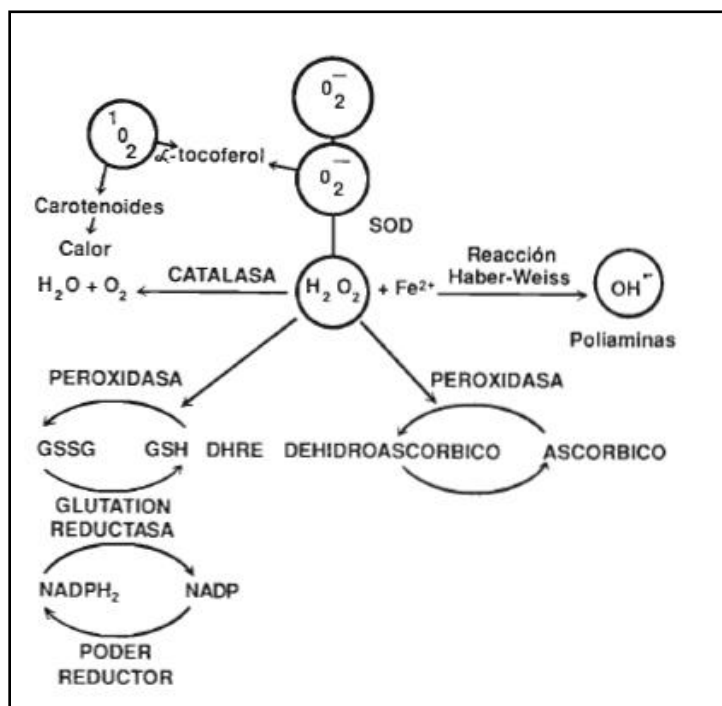


Figura 14 Representación esquemática de diferentes procesos metabólicos y antioxidantes
(Fuente: Trippi et al., 1989)

La enzima *superóxido dismutasa* (EC 1.15.1.1) cataliza la reacción de dismutación del anión superóxido en medio ácido para generar $O_2 + H_2O_2$. En efecto, la enzima SOD puede considerarse como indispensable para la adaptación de los organismos a condiciones ricas en O_2 , o ambientes aeróbicos bajo los cuales se genera el anión superóxido. La formación del H_2O_2 no significa un modo de prevenir

las oxidaciones celulares, por cuanto esta sustancia es también un oxidante fuerte. Sin embargo, la alta difusibilidad de la sustancia, permite que otros sistemas enzimáticos controlen sus niveles endógenos.

La enzima *catalasa* (EC 1.11.1.6) fue la primera enzima antioxidante en ser caracterizada, cataliza la conversión del H_2O_2 a $\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$. Se ubica en los peroxisomas de las células aerobias. Se han realizado numerosas investigaciones sobre la enzima CAT como una de las enzimas antioxidantes que responde a diversos tipos de estrés como: bajas temperaturas, estrés salino, altas concentraciones de oxígeno. También los cambios en la actividad de CAT se han asociado con procesos de senescencia y en hibernación de brotes de plantas (Gong et al., 2000).

La enzima *peroxidasa* (EC 1.11.1.7) cataliza gran diversidad de reacciones, entre otras similar a CAT, cataliza la conversión de peróxido de hidrógeno y un sustrato oxidable en agua y el producto oxidado. Cuando la planta se halla sometida a algún tipo de estrés tanto biótico como abiótico la actividad de esta enzima se ve modulada (Jang y et al., 2004). En los tejidos vegetales, la enzima POX está involucrada en una diversidad de procesos como el pardeamiento enzimático, utilizando compuestos fenólicos como sustrato oxidable, por ejemplo, el guayacol, pirogalol, ácido clorogénico, entre otros (Chisari et al., 2007). La oxidación de un amplio rango de compuestos orgánicos sugiere que la enzima puede estar asociada a la pérdida de color, aroma y valor nutricional de productos frescos y procesados (Thongsook y Barrett, 2005). Cuando se emplea glutatión reducido (GSH) y ácido ascórbico como producto oxidable se constituyen las enzimas glutatión peroxidasa (GPX) y ascorbato peroxidasa (APX), respectivamente, ubicadas en cloroplastos. El glutatión oxidado (GSSG), producto de la reacción catalizada por la peroxidasa, es reducido nuevamente por la participación de la enzima glutatión reductasa utilizando poder reductor del NADPH_2 (**Figura 14**). Asimismo, a partir del glutatión reducido puede regenerarse el ácido ascórbico a partir del dehidroascórbico con participación de la enzima dehidroascorbato reductasa (DHRE). La importancia de los grupos -SH en el sistema antioxidante resulta no sólo de su participación en el sistema de degradación del H_2O_2 , sino también por ser parte constitutiva de enzimas como nitrato reductasa, ATPasa, entre otras. cuya actividad depende del estado oxidado (GSSG) o reducido del grupo -SH (GSH).

5.2. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son los metabolitos secundarios más abundantes en las plantas, se conocen más de 8.000 estructuras fenólicas diferentes desde moléculas simples a compuestos altamente polimerizados. Todas ellas se caracterizan por presentar al menos un anillo aromático unido a uno o más

grupos hidroxilo y pueden dividirse en varias clases, de acuerdo al número de átomos de carbono presentes en conjunción con la estructura fenólica básica. Entre los más importantes se distinguen: ácidos fenólicos, flavonoides, taninos y otros compuestos menos comunes como estilbenos y lignanos (Dai y Mumper, 2010; Michalak, 2006). Como puede observarse, los compuestos fenólicos son un grupo heterogéneo de productos, con distintas características de solubilidad de acuerdo a la complejidad de su estructura: algunos son solubles en solventes orgánicos, otros son glucósidos o ácidos carboxílicos y por lo tanto solubles en agua, y otros son polímeros de gran tamaño y resultan insolubles (Taiz y Zeiger, 2006).

En particular, los ácidos fenólicos pueden dividirse en dos clases: derivados del ácido benzoico (C6-C1) y derivados del ácido cinámico (C6-C3) (Figura 2.4). En el primer grupo se incluyen el ácido p-hidroxibenzoico, ácido gálico, ácido sirínico, ácido salicílico y ácido vainílico. Mientras que los derivados hidroxicinámicos comunes son: ácido cinámico, ácido p-cumárico, ácido cafeico, ácido ferúlico y ácido sinápico. Se ha encontrado que el ácido caféico es el compuesto más abundante en frutas (75-100 % del total de ácidos hidroxicinámicos), mientras que el ácido ferúlico es el más abundante en cereales (El Gharras, 2009). Raramente estos ácidos se encuentran de forma libre, sino que en general forman derivados glicosilados o ésteres. Normalmente forman ésteres con los ácidos quínico, shikímico o tartárico. Por ejemplo, el ácido clorogénico (CGA), éster de los ácidos cafeico y quínico (**Figura 15**), es uno de los más abundantes en la naturaleza, y se ha reportado su presencia en naranjilla. El CGA es predominante en papa, berenjena, ciruela, alcaucil y café (Niggeweg y col., 2004; Vermerris y Nicholson, 2006). En general se denomina ácido clorogénico al ácido 5-cafeoilquínico, mientras que también pueden hallarse los correspondientes isómeros esterificados en las posiciones 3 y 4 (ácidos 3-cafeoilquínico y 4-cafeoilquínico) (**Figura 15**).

Estos compuestos cumplen una variedad de funciones: pueden actuar como mecanismo de defensa ante herbívoros y patógenos, proveen soporte mecánico, atraen polinizadores, algunos de ellos son pigmentos que absorben la radiación ultravioleta y otros actúan como agentes alelopáticos, reduciendo por ejemplo el crecimiento de plantas competidoras. También son sustrato para las reacciones de pardeamiento enzimático por acción de la enzima polifenol oxidasa (PPO). Existen dos vías de biosíntesis: la ruta del ácido shikímico y la ruta del ácido malónico (Taiz y Zeiger, 2006; Dai y Mumper, 2010; Michalak, 2006).

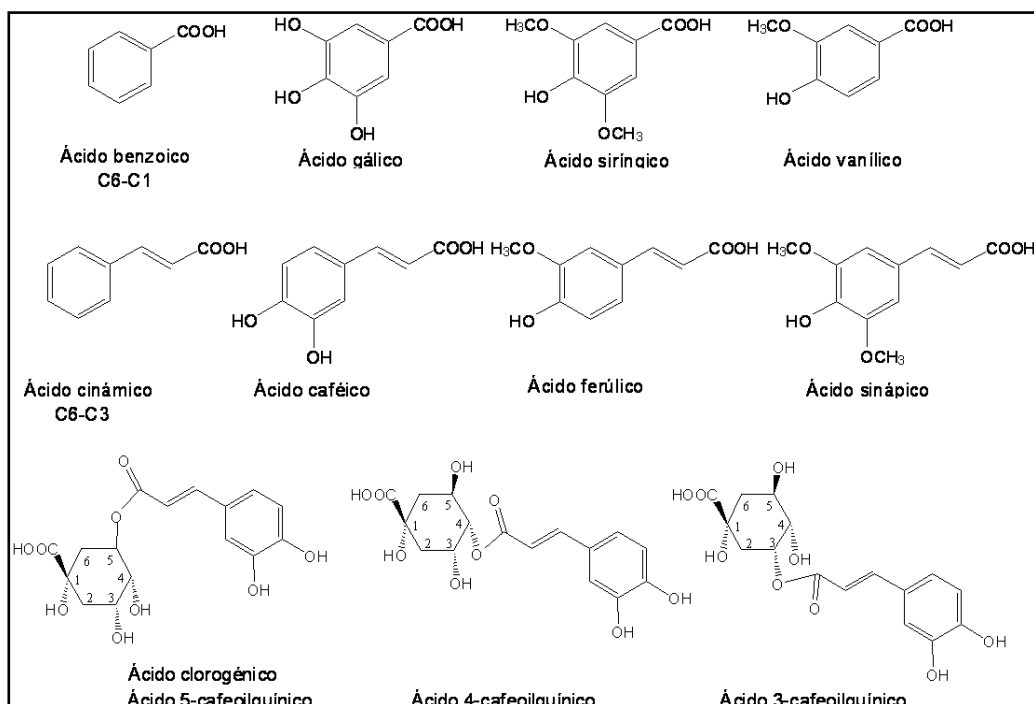


Figura 15 Estructura del ácido benzoico, ácido cinámico, ácido clorogénico y sus derivados

La ruta del ácido shikímico participa en la biosíntesis de la mayoría de los fenoles de las plantas superiores. Utiliza como sustrato a precursores de carbohidratos simples derivados de la glucólisis (ácido fosfoenolpirúvico) y de la vía de las pentosas fosfato (eritrosa 4-fosfato) para formar aminoácidos aromáticos. Uno de los productos de esta vía es la fenilalanina, de la que derivan la mayoría de los fenoles (**Figura 16**). La fenilalanina, aminoácido esencial del metabolismo primario, pasa al metabolismo secundario cuando la enzima fenilalanina amonio liasa (PAL) cataliza su conversión a ácido trans-cinámico. Este producto es posteriormente convertido a ácido p-cumárico por la adición de un grupo hidroxilo en posición 4 en el anillo aromático. En reacciones siguientes conducen a la adición de más grupos hidroxilo y otros sustituyentes, para formar compuestos derivados y que constituyen la base de fenoles estructuralmente más complejos. La biosíntesis del ácido clorogénico, uno de los compuestos fenólicos más abundantes en la naranjilla (Gancel et al., 2008) y sus derivados, siguen también esta ruta. Por otro lado, la vía del ácido malónico es una vía metabólica de síntesis de fenoles que se produce en bacterias y hongos, sin embargo, existe en las plantas superiores, aunque no de mucha importancia (Taiz y Zeiger, 2006).

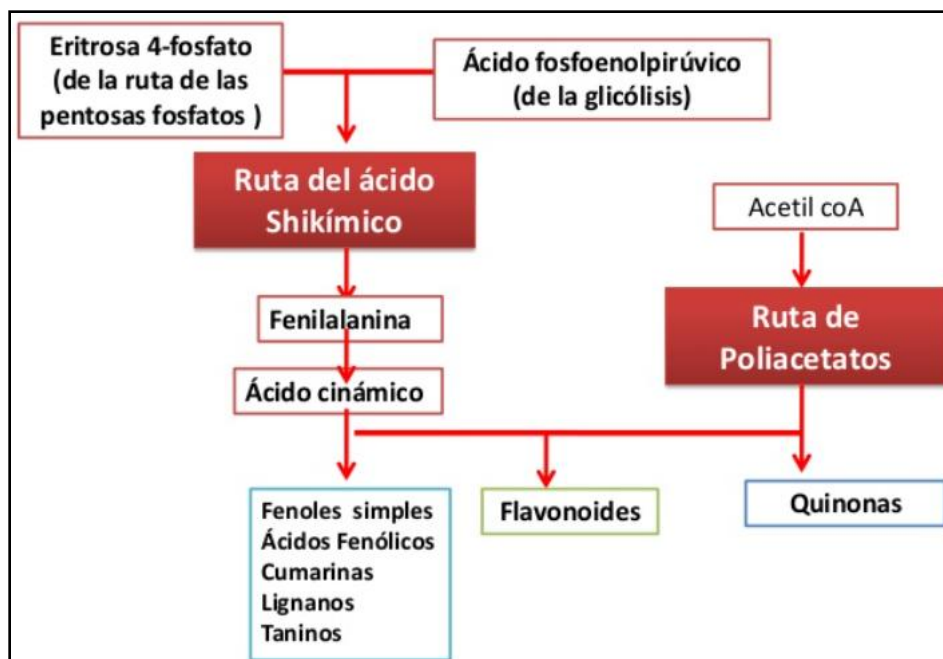


Figura 16 Biosíntesis de compuestos fenólicos

La enzima *fenilalanina amonio liasa* (EC 4.3.1.5), PAL, tiene un rol crucial en el metabolismo fenilpropanoide secundario y por ello en la biosíntesis de compuestos fenólicos, y ha sido extensamente estudiada respecto a la respuesta de las plantas frente al estrés biótico y abiótico. Los niveles de esta enzima fluctúan significativamente en cortos intervalos de tiempo en respuesta a una amplia variedad de estímulos según el órgano de la planta en el que se ubique, la exposición a la luz y radiación, heridas en el tejido, infecciones, exposición a etileno, niveles de carbohidratos, concentración de hormonas, modificadores de crecimiento y bajas temperaturas (Camm y Towers, 1973; Sung Kim y Kook Hwang, 2014; Dong et al., 2015).

Por otro lado, durante la degradación oxidativa de los compuestos fenólicos participan dos enzimas que juegan un papel esencial en el pardeamiento de tejidos vegetales: la peroxidasa y la polifenoloxidasas (PPO). Como se mencionó anteriormente, la enzima peroxidasa emplea compuestos fenólicos como sustratos oxidables por el peróxido de hidrógeno.

La enzima *polifenol oxidasas* (EC 1.10.3.1), PPO, es ubicua en las plantas. Tiene vital importancia en la melanogénesis ya que cataliza la oxidación de monofenoles y/o difenoles a ortoquinonas y su posterior polimerización para la formación de pigmentos pardos denominados melaninas. Entre las funciones biológicas más relevantes es su intervención en la defensa de las plantas frente a patógenos y herbívoros. Estudios han demostrado que esta enzima presenta actividad pro y antioxidante, que

responde a variaciones de las condiciones ambientales y podría estar involucrada en la respuesta de las plantas frente al estrés abiótico (Dong et al., 2015a; Boeckx et al., 2015).

Finalmente, factores como el estado de desarrollo del fruto, prácticas de cultivo, condiciones ambientales precosecha, tratamientos poscosecha y tipo de procesamiento influyen sobre el contenido de compuestos fenólicos en productos frutihortícolas por su relación directa con la actividad de las enzimas relacionadas con su metabolismo.

6. PRODUCTOS DERIVADOS DE FRUTAS Y HORTALIZAS: INNOVACIÓN Y FUNCIONALIDAD

Los productos frutihortícolas pueden consumirse en estado fresco (I gama), en conserva (II gama), congeladas (III gama), frescas mínimamente procesadas (IV gama) y cocidas mantenidas en cadena de frío (V gama) (Rotondo et al., 2008). De esta manera se ofrece al mercado un producto vegetal fresco o con valor agregado que permite ampliar el abanico de ofertas de frutas y hortalizas destinadas al consumidor.

La industria de alimentos se ha desarrollado en los últimos años iniciándose el uso combinado de ingredientes especiales, aprovechamiento de subproductos, implementación de nuevos tipos de procesamiento y diseño de empaques novedosos; finalmente el consumidor tiene acceso a un producto de calidad, saludable, en formas de empaque que facilitan su consumo y reducen el tiempo de preparación.

El desarrollo de un nuevo producto en la industria de alimentos se inicia con la investigación básica, luego se realiza la investigación aplicada (desarrollo) y finalmente es llevado al mercado. Un producto innovador se define como aquel que es introducido al mercado encontrando buena aceptación.

Para el diseño de un producto innovador se deben considerar cuatro aspectos básicos (Vanegas-Pérez, 2012):

1. Vigilancia tecnológica.- Soportada en patentes y artículos científicos bajo la responsabilidad de centros de investigación y las universidades.
2. Vigilancia de mercados.- Basada en la preferencia de compra por parte del consumidor. El desarrollo de bebidas sin alcohol ocupa el primer lugar en la frecuencia de lanzamiento de nuevos productos, mientras que productos de panadería y condimentos ocupan el segundo y tercer lugar, respectivamente. Las frutas y hortalizas ocupan el décimo tercer lugar.

3. Normativa vigente.- Se debe tomar en cuenta el uso de aditivos y restrictores de consumo (reducción de sodio, azúcar, grasas) relacionadas con declaraciones de salud y nutrición.
4. Recursos.- El desarrollo de un producto supone el uso de materiales, insumos y tecnología.

Actualmente los consumidores se encuentran más informados y esperan encontrar en el mercado alimentos nutritivos, con buenas características sensoriales, económicos y sostenibles (Guerrero et al., 2009). Las decisiones de consumo se basan en estas percepciones por lo que el desarrollo de un nuevo producto constituye un reto para la tecnología de alimentos.

El valor nutricional agregado que puede tener un producto está dado por sus ingredientes, según explica Gavilán-Bravo (2007), se utilizan ingredientes nutricionales e ingredientes con propiedades saludables. Los primeros constituidos por compuestos que proporcionan efectos nutricionales de regulación metabólica como vitaminas, minerales y aminoácidos. Los segundos están constituidos por sustancias y/o extractos de origen vegetal o animal que en dosis adecuadas producen efectos beneficiosos en el consumidor a nivel fisiológico o en la reducción de riesgos de enfermedades. Se describen como ingredientes innovadores a los polifenoles, fitoestrógenos, ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, pigmentos naturales, prebióticos, enzimas, entre otros. Los alimentos que contienen tanto ingredientes nutricionales como saludables se describen como alimentos funcionales.

El término "funcional" fue introducido en Japón a mediados de la década de 1980. Los alimentos funcionales se definen como "alimentos fortificados integrales, enriquecidos o mejorados que proporcionan ventajas y/o beneficios más allá de la nutrición básica cuando se consumen a un nivel efectivo sobre una dieta regular" (American Dietetic Association, 1999).

La selección de ingredientes innovadores dependerá de las características que se quiera lograr en el producto como la calidad en general (composición, características organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas), la estabilidad del producto (alterabilidad durante el almacenamiento, transporte y comercialización, así como bajo las condiciones habituales de consumo), la durabilidad (vida útil en condiciones normales de uso y consumo) y polifuncionalidad del producto (grupos de consumidores: adultos, infantes, diabéticos, celíacos, hipertensos, entre otros) (Martínez, 2013).

Se deben demostrar las propiedades funcionales, es decir los beneficios para los consumidores según las dosis, sistema de aplicación, bioaccesibilidad (fracción liberada del alimento durante la digestión y disponible para absorción) y biodisponibilidad (cantidad o proporción de la dosis ingerida que alcanza torrente sanguíneo) de los ingredientes nutricionales (Bigliardi et al., 2013), esto a través de un proceso de evaluación científica con vista a su declaración en el etiquetado de los alimentos.

El mercado mundial de alimentos y bebidas funcionales es altamente dinámico, se encuentran ingredientes saludables añadidos en productos como fibra, omega-3, antioxidantes y probióticos en alimentos lácteos y no lácteos no tradicionales en los que se incluyen productos de panadería, confitería y bebidas.

Frutos enteros, mínimamente procesados y procesados incluyendo jugos y subproductos, se utilizan como materias primas para batidos, yogures, bebidas y helados; los frutos secos se utilizan principalmente como snacks. En los últimos años se ha incrementado el uso de ingredientes basados en frutas como derivados de colorantes (como antocianinas y carotenos), como rellenos y endulzantes con índices bajos en glucemia y altos en sólidos solubles (Sun-Waterhouse, 2011). Frutos deshidratados que conservan su color y flavor son utilizados como aditivos en productos de panadería (Maltini et al., 1993). Por otro lado, se ha incrementado el uso de extractos fitoquímicos a partir de frutos y subproductos como ingredientes de alimentos; es así que se plantea la determinación de la actividad antioxidante, anticancerígena, antiinflamatoria y de estimulación del sistema inmune en extractos de frutos; estas características funcionales están dadas principalmente por un alto contenido de polifenoles (El Gharras, 2009). Sun-Waterhouse (2011) señala que los extractos de polifenoles y fibra a partir de frutas y subproductos son usados como ingredientes para mejorar o fortificar alimentos y bebidas.

Para la selección de los ingredientes de un alimento funcional se debe considerar la interacción entre los compuestos bioactivos y los otros componentes de la formulación del alimento durante el procesado y almacenamiento, así como su estabilidad en el producto final (Chaudhari, 2009). Los beneficios del producto final dependerán de los compuestos bioactivos individuales y de la matriz del alimento. Las interacciones entre los compuestos bioactivos y la matriz del alimento pueden ser exclusivas, aditivas o sinérgicas. Se ha demostrado que es posible incrementar la bioaccesibilidad diseñando interacciones sinérgicas para superar tanto las barreras de absorción/digestión como las modificaciones químicas y enzimáticas que se producen en el cuerpo (Scheepens et al., 2010). En este sentido es importante enfocar la investigación de frutas no tradicionales o exóticas con alto contenido de vitaminas y compuestos antioxidantes para que sean utilizadas en el desarrollo de nuevos productos innovadores y con un potencial funcional.

OBJETIVOS

1.2 OBJETIVO GENERAL

Determinar la influencia de la variedad y grado de madurez en las características fisicoquímicas de frutos de naranjilla; analizar estrategias de conservación poscosecha para reducir el deterioro y desarrollar un producto panificado enriquecido con naranjilla.

1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Estudiar el efecto del grado de madurez sobre la calidad de tres variedades de naranjilla
2. Evaluar la aplicación de la radiación UV-C sobre la calidad poscosecha de naranjilla refrigerada y su efecto sobre la capacidad antioxidante del fruto.
3. Evaluar el rol del etileno en la respuesta poscosecha de naranjilla y evaluar el potencial de la aplicación de 1-MCP para mantener la calidad poscosecha de naranjilla refrigerada y su efecto sobre el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante
4. Estudiar las respuestas inducidas en frutos de naranjilla por aplicación de tratamientos poscosecha de radiación UV-C y 1-MCP sobre el control de *Fusarium*
5. Desarrollar un pan enriquecido con naranjilla y determinar su calidad panadera, aceptabilidad sensorial y la bioaccesibilidad de compuestos bioactivos mediante digestión *in vitro*

Materiales y métodos



MATERIALES Y MÉTODOS

Las determinaciones efectuadas en el presente trabajo de tesis se llevaron a cabo en el CIAL-Centro de Investigación de Alimentos, Universidad UTE (Quito, Ecuador) y en el CIDCA-Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos, Fac. Cs. Exactas, Universidad Nacional de La Plata (La Plata, Argentina).

Asimismo, se asistió al Laboratorio de Fitopatología de la Agencia de Aseguramiento de localidad del Agro (Agrocalidad, Tumbaco, Quito-Ecuador) y a los laboratorios de la Facultad de Ciencias de la Ingeniería e Industrias de la Universidad UTE - Quito, Ecuador.

A. ENSAYOS EXPERIMENTALES

1. Ensayo Capítulo I: Caracterización de 3 variedades de naranjilla en 2 grados de madurez y durante el almacenamiento a temperatura ambiente

1.1. Material vegetal y diseño del experimento

Las variedades de naranjilla (*Solanum quitoense*) utilizadas en este estudio fueron:

- a) Variedad Agria.- cosechada en el Puyo (provincia de Pastaza, 1.4924° S, 78.0024° W), ubicado a 245 km de la ciudad de Quito. Se realizaron 3 cosechas en los meses de octubre y noviembre de 2014.
- b) Variedad Baeza.- cosechada en la zona de Baeza (provincia de Napo, 0.4644° S, 77.8896° W), ubicada a 105 km de la ciudad de Quito. Se realizaron 3 cosechas en los meses de mayo y junio de 2015.
- c) Variedad INIAP Quitoense 2009.- cosechada en San Miguel de Los Bancos (noroccidente de la provincia de Pichincha, 0.0252° N, 78.8920° W) ubicado a 94 km de la ciudad de Quito. Se realizaron 3 cosechas en los meses de febrero y marzo de 2015.

Los frutos se cosecharon en dos grados de madurez según la norma técnica ecuatoriana NTE INEN 2 303, (2009): frutos con un desarrollo de color amarillo menor al 50% (grado de madurez 3) y frutos con un 75 al 100% de desarrollo de color amarillo (grado de madurez entre 4 y 5); estos últimos se dividieron en dos grupos: el primero que fue analizado inmediatamente (denomina grado 5) y el segundo que se mantuvo en almacenamiento a temperatura ambiente (16 °C) durante 14 días (denominado 5+alm.) simulando una comercialización larga y habitual (sin film) en los mercados ecuatorianos.

Una vez en el laboratorio se eliminaron aquellos frutos que presentaron daños u otros defectos seleccionándose 30 unidades para cada grado de madurez. Se realizó la limpieza de los frutos con esponjas y cepillos secos, retirando los tricomas. Para cada estado de desarrollo se realizaron las siguientes determinaciones: peso, volumen, densidad, perímetro, longitud, firmeza, tasa respiratoria

(TR), color de piel, pH, acidez total titulable (AT), sólidos solubles (SS) y *ratio* (relación entre AT/SS). Seguidamente se congelaron muestras de los tejidos (piel y pulpa) en N₂ líquido y se almacenaron a -20 °C para realizar el análisis de fenoles totales y capacidad antioxidante. Se determinó el rendimiento de pulpa en los frutos maduros (estado 5) y almacenados a temperatura ambiente (5+alm.). El experimento se realizó por triplicado. Las determinaciones se realizaron según se describe en la sección 3.

Con los resultados de la caracterización se seleccionó la variedad que presentó mejores atributos en cuanto a firmeza, rendimiento de pulpa y capacidad antioxidante en el grado de madurez 5, con esta variedad se desarrollaron los ensayos que se describen en posteriores capítulos.

2. Ensayo Capítulo II: Aplicación de radiación UV-C como tratamiento poscosecha en naranjilla (*Solanum quitoense* var. Baeza)

2.1. Material vegetal

Frutos de naranjilla (*Solanum quitoense* var. Baeza) fueron cosechados con grado de madurez entre 4 y 5 en la zona de Baeza (provincia de Napo). Se realizaron 3 cosechas en los meses de mayo y julio de 2016. Los frutos fueron trasladados al laboratorio donde se clasificaron por tamaño y ausencia de defectos.

2.2. Selección de la dosis óptima de radiación UV-C

Los frutos seleccionados se dividieron en dos grupos: control (no irradiados) y tratados (irradiados). Estos últimos se colocaron bajo cuatro lámparas UV-C (lámpara UV Germicidal G30T8) a una distancia de 30 cm y se trataron con dosis de 4,5, 9,5 y 12,5 kJ/m². La intensidad de la radiación fue medida con un radiómetro digital UV (UVX Radiometer UVP). Una vez finalizado el tratamiento, los frutos se colocaron en bandejas PET tipo clamshells (22x18x7,5 cm y de 15 µm de espesor) y posteriormente se almacenaron a una temperatura de 4°C durante 28 días. A los 0, 7, 14, 21 y 28 días se analizó la pérdida de peso y el avance del daño (evaluado a través del índice de deterioro -ID-). Se utilizaron tres bandejas conteniendo entre 6 a 8 frutos por cada tratamiento y tiempo de almacenaje. El experimento completo se realizó por triplicado.

2.3. Comportamiento poscosecha de naranjilla tratada con radiación UV-C

Una vez seleccionada la dosis efectiva se evaluó el comportamiento poscosecha de la naranjilla durante 21 días de almacenamiento refrigerado (4°C). En frutos tratados y controles, cada 7 días, se realizaron los siguientes análisis: pérdida de peso, índice de deterioro, tasa de respiración (TR), producción de etileno, firmeza, color superficial (L, a y b, Hue y Cr*), superficie pardeada (% manchas en la piel), pH, acidez total titulable (AT), sólidos solubles (SS) y *ratio* (relación entre AT/SS), recuento de aerobios

mesófilos totales, mohos y levaduras. Se tomaron muestras inmediatamente después del tratamiento y a los 7, 14 y 21 días de almacenamiento, se congelaron en nitrógeno líquido y se liofilizaron para su posterior análisis del contenido de fenoles totales, carotenoides totales y capacidad antioxidante. En el extracto etanólico se analizó el perfil fenólicos y composición por Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (CG-EM). Se utilizaron cuatro bandejas conteniendo 6 a 8 frutos por cada tratamiento y tiempo de almacenaje. El experimento completo se realizó por triplicado.

3. Ensayo Capítulo III: Aplicación del 1-MCP como tratamiento poscosecha en naranjilla (*Solanum quitoense* var. Baeza)

3.1. Material vegetal

Frutos de naranjilla (*Solanum quitoense* var. Baeza) fueron cosechados con grado de madurez entre 4 y 5 en la zona de Baeza (provincia de Napo). Se realizaron 3 cosechas en los meses de mayo y julio de 2016. Los frutos fueron trasladados al laboratorio donde se clasificaron por tamaño y ausencia de defectos.

3.2. Selección del tiempo óptimo de exposición al 1-MCP

Los frutos seleccionados se dividieron en dos grupos: control (no tratados) y tratados. Se utilizó 1-MCP (EthylBloc®), formulado en polvo que presenta un 0.014 % de ingrediente activo que se libera en forma de gas luego de su hidratación. Para la aplicación del tratamiento gaseoso se utilizaron gavetas plásticas herméticas de 50 L de capacidad con un orificio lateral que permite la inyección de agua necesaria para la liberación del 1-MCP. Se pesaron 0,291 g de EthylBloc® para lograr una concentración de 0,5 µL/L con tiempos de exposición de 8, 12 y 24 horas a 12°C. Una vez finalizado el tratamiento, los frutos se colocaron en bandejas de PET tipo clamshells (22x18x7,5 cm y de 15 µm de espesor) y posteriormente se almacenaron a una temperatura de 4°C durante 28 días. Las muestras control (sin exposición al 1-MCP) se empacaron y almacenaron directamente. A los 0, 7, 14, 21 y 28 días se analizó la pérdida de peso y el avance del daño (evaluado como índice de deterioro -ID-). Se utilizaron tres bandejas conteniendo 6 a 8 frutos por cada tratamiento y tiempo de almacenaje. El experimento completo se realizó por triplicado.

3.3. Comportamiento poscosecha de naranjilla tratada con 1-MCP

Una vez seleccionada la dosis efectiva se evaluó el comportamiento poscosecha de la naranjilla durante 21 días de almacenamiento refrigerado (4°C). En frutos tratados y controles, cada 7 días, se realizaron los siguientes análisis: pérdida de peso, índice de deterioro, tasa de respiración (TR), producción de etileno, firmeza, color superficial (L, a y b, Hue, Cr*), superficie pardeada (% manchas en la piel),

recuento de aerobios mesófilos totales, mohos y levaduras. Se tomaron muestras inmediatamente después del tratamiento y a los 7, 14 y 21 días de almacenamiento, se congelaron en nitrógeno líquido y se liofilizaron para su posterior análisis del contenido de fenoles totales, carotenoides totales y capacidad antioxidante. En el extracto etanólico se analizó el perfil fenólicos y composición por Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (CG-EM). Se utilizaron cuatro bandejas conteniendo 6 a 8 frutos por cada tratamiento y tiempo de almacenaje. El experimento completo se realizó por triplicado.

4. Ensayo Capítulo IV: Respuestas inducidas en frutos de naranjilla por aplicación de tratamientos UV-C y 1-MCP que influyen sobre el control de *Fusarium*

4.1. Aislamiento e identificación de hongos filamentosos en naranjilla

Frutos con ligero desarrollo fúngico en el cáliz (hongo filamentoso blanco) se mantuvieron en oscuridad durante 10 días a temperatura ambiente para permitir el crecimiento del micelio, transcurrido este tiempo se tomó asépticamente una muestra de micelio y se colocó en caldo Sabouraud y se incubó durante 5 días a 25°C con el fin de enriquecer la población de hongos. Posteriormente con la ayuda de una aguja de inoculación estéril se tomó una ansada de caldo Sabouraud y se inoculó por depósito en agar patata dextrosa (PDA), se incubó por 5 días a 25°C. A partir de las colonias desarrolladas se realizó una inoculación por depósito en PDA hasta la obtención de un cultivo monospórico.

4.1.1. Identificación morfológica

La identificación morfológica (determinación del género del hongo aislado) se realizó con ácido láctico en una placa portaobjetos y se observó en un microscopio confocal (Olympus, Modelo: BX43F) que permite la generación de imágenes multidimensionales en 2D, 3D, entre otras, con alta resolución. La morfología del hongo se identificó mediante claves taxonómicas, según la metodología de Carrillo (2003).

4.1.2. Identificación molecular

Las cepas aisladas e identificadas morfológicamente fueron sometidas al proceso de identificación molecular mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

La extracción del micelio se realizó según Castellanos et al. (2013). Se preparó un Erlenmeyer con 25 mL de caldo Sabouraud y se tomaron 2 plugs (porción de agar con micelio extraído mediante un sacabocados) del hongo previamente aislado en placas Petri con PDA. Se colocó cada uno de los plugs en el caldo y los matraces se cubrieron con papel aluminio y Parafilm M®. Estos recipientes fueron

colocados sobre un agitador de placas y se mantuvieron a temperatura ambiente en oscuridad por 5 días. Una vez que el micelio se encontró puro y limpio se procedió a su cosecha mediante el uso de una bomba de succión, con la que se absorbió el caldo contenido en cada Erlenmeyer. Finalmente, con ayuda de una pinza estéril se almacenó el micelio en tubos Falcon, se congeló en N₂ líquido y se mantuvo a -20°C hasta su análisis. Las muestras fueron sometidas a la extracción del ADN, reacción PCR y la electroforesis.

La extracción del ADN genómico total y la amplificación del factor de elongación de transcripción (EF) - $\alpha 1$, se realizó según describe O'Donnell et al. (1998). Las porciones 5' de la región de codificación del factor de elongación de la transcripción (EF) fueron amplificados con los primers EF-1 y EF-2. Las características de los primers utilizados se muestran en la **Figura 17**.

EF-1 5'-ATGGGTAAGGA(A/G)GACAAGAC-3' EF-2 5'-GGA(G/A)GTACCAGT(G/C)ATCATGTT-3'

Figura 17 Secuencia de oligonucleótidos de primers usados para PCR para la identificación del hongo filamentoso

4.2. Pretratamiento con radiación UV-C y 1-MCP

Con el fin de conocer las respuestas inducidas en frutos de naranjilla por aplicación de pretratamientos UV-C y 1-MCP que influyen sobre el control del hongo filamentoso inoculado artificialmente en naranjilla se realizó un ensayo según Andrade-Cuvi et al. (2013) con modificaciones.

4.2.1. Material vegetal y diseño del experimento

Frutos de naranjilla (*Solanum quitoense* var. Baeza) fueron cosechados con un grado de madurez entre 4 y 5, e inmediatamente se trasladaron al laboratorio. Se seleccionaron 48 frutos por cada tratamiento sin defectos y se dividieron en cuatro grupos: (1) frutos no inoculados denominados control, (2) frutos inoculados (3) frutos tratados con radiación UV-C 9,5 kJ/m² e inoculados (4) frutos tratados con 1-MCP por 8h e inoculados. Las dosis de radiación UV-C y 1-MCP fueron determinadas según se indica en las **Secciones 2.2 y 2.3 (Ensayo Capítulo II y III)**. Posteriormente las muestras se almacenaron en bandejas abiertas y se mantuvieron a temperatura ambiente (18 °C) protegidas de la luz durante 6 y 12 días.

4.2.2. Inoculación artificial del hongo (*Fusarium*) en naranjilla

Se preparó una suspensión de esporas y conidios a partir de colonias crecidas en agar PDA tomando con un hisopo estéril una muestra del hongo filamentoso y se colocó en 9 mL de agua destilada estéril que

contenía 0,03% de Tween-80. La suspensión de esporas se realizó según el estándar Mac Farland No. 2 correspondiente a 10^8 cél/mL.

Para la inoculación, las naranjillas se esterilizaron superficialmente con etanol (95%) y se realizaron dos heridas de 3 mm de profundidad en la línea ecuatorial con una aguja estéril y se inocularon 20 µL de la suspensión de esporas en cada herida.

4.2.3. Evaluación del efecto de la aplicación de radiación UV-C y 1-MCP

Los frutos tratados con radiación UV-C o 1-MCP (9,5 kJ/m² y 0,5 µL/L por 8h, respectivamente) fueron posteriormente inoculados y almacenados a temperatura ambiente. Luego de 4 h, 6 y 12 días luego de la inoculación (tiempo post-inoculación) se tomaron al azar frutos de cada tratamiento y se realizaron las siguientes determinaciones: pérdida de peso, firmeza y halo de infección. En el día 0, luego de 4 h de "tratamiento + inoculación" y a los 6 y 12 días se congelaron en N₂ líquido muestras de tejido (piel y pulpa) de la zona ecuatorial de los frutos y se almacenaron a -20°C para su posterior análisis. En una porción de las muestras se realizó el análisis del contenido de fenoles totales y ensayos enzimáticos de polifenol oxidasa (PPO), peroxidasa (POX) y fenilalanina-amonio-liasas (PAL), además se determinó el contenido de proteína en los extractos enzimáticos. Se calculó la correlación entre el contenido de FT y las actividades enzimáticas de PAL, PPO y POX mediante el coeficiente de correlación de Pearson (*r*). Otra porción de las muestras fue liofilizada y se realizó el aislamiento de pared celular (residuo insoluble en alcohol -RIA-) y la cuantificación de azúcares neutros -AN- y ácidos urónicos -AU-).

5. Ensayo Capítulo V: Elaboración de pan de molde enriquecido con naranjilla

5.1. Material vegetal

Se seleccionó naranjilla (*Solanum quitoense* var. Baeza) cosechada en grado de madurez 5 en la zona de Baeza (provincia de Napo), ubicada a 105 km al este de la ciudad de Quito (Ecuador). El fruto entero (cáscara, pulpa y semillas) fue utilizado como puré para la elaboración del producto panificado. Se seleccionaron frutos libres de defectos, se retiró el pedúnculo y tricomas, se lavaron, se dejaron secar a temperatura ambiente y posteriormente se pesaron. El puré de naranjilla fue obtenido mediante licuado (sin tamizado posterior), este fue mezclado con el agua restante del requerimiento de agua en la formulación del pan.

5.2. Formulación y elaboración de pan de naranjilla

Se obtuvo pan de molde con harina de trigo para panificación usando como base la formulación de Guijarro et al. (2018), con modificaciones.

- **Formulación.**- Se desarrolló una formulación de pan de naranjilla con harina de trigo fortificada como base (100%), grasa vegetal (6%), levadura fresca (8%), azúcar blanca (20%), mejorador de harina (1%), sal (1%) y agua (61%). De este 61%, se adicionó naranjilla (var. Baeza) como puré de fruta en una proporción del 50% mezclado con el 11% de agua restante. Se elaboró pan sin adición de puré de naranjilla denominado "control".

- **Elaboración del pan.**- Se pesaron todos los componentes por separado y se colocaron en una batidora industrial marca Hobart de capacidad 5,5 kg de harina; se mezcló a velocidad 1 y 2, por 1 y por 5 min, respectivamente. La masa se retiró de la batidora a una mesa de acero inoxidable con harina espolvoreada y se dejó reposar durante 5 min. Se tomó la masa reposada y se dividió en porciones de 220 g, las porciones fueron boleadas y amasadas para formar un pan de molde. Las masas boleadas fueron llevadas a la etapa de fermentación en moldes de aluminio durante 6 min a temperatura ambiente; transcurrido este tiempo se hornearon a 215 °C por 20 min. Los panes horneados se temperaron sobre una mesa de aluminio durante 2 h a temperatura ambiente y se almacenaron en bolsas de polietileno, 24 h después se realizó el análisis de la calidad panadera, aceptabilidad sensorial y se determinó la bioaccesibilidad de los compuestos con actividad antioxidante (fenoles totales, carotenoides y capacidad antioxidante total hidrofílica).

B. DETERMINACIONES ANALÍTICAS

1. Peso, volumen y densidad

Los frutos se pesaron individualmente usando una balanza electrónica (Ohaus Modelo TAJ602) (sensibilidad 0,1g). El volumen (V) se determinó utilizando el método de desplazamiento de agua empleando una probeta de 250 mL (o volumen según el tamaño del fruto). Se utilizaron 30 naranjillas de peso (P) para cada condición analizada. La densidad (δ) se calculó como $\delta = P/V$.

2. Perímetro y longitud

Para la medición del perímetro se utilizó una cinta métrica flexible. Los resultados se expresaron en cm. La longitud se midió perpendicularmente al eje ecuatorial del fruto usando una escala en cm. Se utilizaron 30 naranjillas para cada condición analizada.

3. Firmeza

Se midió la firmeza de frutos en diversos puntos luego de retirar la piel en la zona ecuatorial de cada naranjilla. Se utilizó un penetrómetro o durómetro de frutas (Penetrometer Firmness Tester). Los

resultados obtenidos fueron registrados en Newtons (N). Se analizaron 30 naranjillas y 2 medidas en la zona ecuatorial de cada una de ellas para cada condición analizada.

4. Tasa respiratoria (TR)

Se utilizó la técnica de atmósfera confinada (Bartz y Brecht, 2002). Se tomaron 4 frutos previamente pesados y se colocaron en un recipiente hermético de 1 L y adaptado para la medida. Se determinó la cantidad de CO₂ a tiempo inicial y luego de 1 h de respiración. Se utilizó un analizador de gases (CO₂ Meter Vitro GC-2028).

La tasa de respiración se calculó según la ecuación $TR = [(P \cdot V / R \cdot T) ((\Delta CO_2 \cdot PM_{CO_2}) / m \cdot t)] \cdot 100$; donde: P= presión atmosférica (atm); V= Volumen espacio libre (L), R= Constante de universal de los gases (0,082 atm·L/mol·K); T= Temperatura (K), ΔCO_2 = diferencia entre el porcentaje de CO₂ final e inicial; PM CO₂ = Peso molecular del CO₂ (g/mol); t= tiempo de medición (h) y m= masa de la muestra (kg). Los resultados se expresaron en mg de CO₂ por kg·h. Se efectuaron 3 medidas independientes empleando frutos de cada condición y que habían alcanzado 20 °C.

5. Color

Se midió el color empleando un colorímetro (Kónica Minolta CR400), usando la escala Cie L*a*b*. Se midieron los tres parámetros: L* (luminosidad, escala: 0=negro, 100=blanco), a* (escala: -a=verde, +a=rojo) y b* (escala: -b=azul, +b=amarillo), según la metodología de Oz y Ulukanli (2013). Los valores de a* y b* se utilizaron para calcular el ángulo de tono ($hue = 180 - \tan^{-1} b^*/a^*$).

Se evaluaron 30 frutos por cada condición analizada, y 3 medidas por cada fruto.

6. pH, acidez total titulable (AT), sólidos solubles (SS) y ratio

Se tomaron 50 g de fruta y se homogenizó con un trituradora (Oster), se filtró usando un lienzo. El filtrado se utilizó para la medición del pH, AT y SS. Los análisis se realizaron por triplicado para cada condición analizada.

pH.- Se utilizó un medidor de pH (Metter Toledo Modelo Seven Easy pH/ion S220) y se registraron los valores mediante la inmersión de un electrodo en 10 mL de extracto líquido previamente filtrado y disuelto en 100 mL de agua destilada.

Acidez total titulable (AT).- Se realizó a través de la valoración de pH hasta llegar a 8,3 en 5 mL de filtrado que se disolvieron en 95mL de agua destilada y se tituló con una solución de NaOH 0,1 N. Los resultados fueron expresados como g de ácido cítrico por cada 100 g de tejido.

Sólidos Solubles (SS).- Se determinó usando un refractómetro digital (Boeco BOE 32195). Los resultados se expresaron en ° Brix.

Ratio.- Se calculó mediante la relación entre SS/AT.

7. Rendimiento de pulpa

Se pesó la fruta entera, se retiró y descartó la piel y se volvió a pesar. Se presionó manualmente cada fruto en un tamiz para separar la pulpa de las semillas. Se pesó la cantidad de pulpa obtenida y se expresó como porcentaje (%) respecto al peso de la fruta entera.

8. Fenoles totales y capacidad antioxidante

8.1. Preparación de extractos

Las muestras de naranjilla congeladas se trituraron con un molinillo Philips minipimer y se pesaron aproximadamente 6 g del polvo obtenido y se colocó en 12 mL de etanol para tejido fresco y 0.5 g del polvo obtenido y se colocó en 6 mL de etanol para tejido liofilizado. La mezcla se agitó durante 15 min y el homogenato se centrifugó a 6000 xg en una centrífuga (Hermle Labnet Z323K), durante 15 min. Se tomó el sobrenadante, se alicuotó y se almacenó a -20 °C hasta ser analizado. Todas las operaciones se realizaron a 4°C.

8.2. Determinación de fenoles totales

Se midió usando el método colorimétrico con el reactivo de Folin-Ciocalteau (Singleton y Rossi, 1995) con ligeras modificaciones. Se tomaron alícuotas entre 40 y 50 µL de extracto que fue transferido a un tubo que contenía 1750 µL de agua destilada, luego se agregó 200 µL de reactivo Folin Ciocalteau (1N), se homogenizó y luego de 3 min a temperatura ambiente se añadió 400 µL de Na₂CO₃ al 20 % P/V en NaOH 0,1N completando un volumen final de 2400 µL con agua destilada. La mezcla de reacción se incubó durante 1 h a temperatura ambiente. Se midió la absorbancia de la solución a 760 nm en un espectrofotómetro (Thermo Spectronic Modelo Genesys 20). La concentración de fenoles totales fue calculada empleando una curva de calibración con ácido gálico de 3,4 a 17 µg en el volumen final de reacción. Las medidas se realizaron por triplicado para cada muestra analizada y los resultados se expresaron como mg de ácido gálico por kg de tejido liofilizado.

8.3. Determinación de la capacidad antioxidante por el radical ABTS

Se realizó por espectrofotometría basándose en la decoloración del radical ABTS^{•+} [2,2 'azinobis-(ácido3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)], de acuerdo a la metodología de Re et al. (1999). Se colocaron 1000 µL de

la dilución del radical ABTS^{•+} en tubos de ensayo, se añadió 20 µL de extracto etanólico y se homogenizó en un agitador vortex y se dejó reposar por 6 min cubiertos con Parafilm® a temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo se procedió a medir la absorbancia a 734 nm. Para la muestra blanco se sustituyó el extracto por etanol. Se realizó una curva de calibración usando trolox (6-hidroxi-2,5,7,8 tetrametilcromo-2 ácido carboxílico) 0,5 mM como antioxidante sintético de referencia. Se tomaron volúmenes de 10 a 45 µL (cada 5 µL) de solución de trolox y los resultados se expresaron como mmol de trolox por kg de tejido seco (Cap. I se realizó en base a materia seca. Cap. II y III se realizó con tejido liofilizado). Las medidas se realizaron por triplicado para cada muestra analizada.

8.4. Determinación de la capacidad antioxidante por el radical DPPH

Este método se basa en la reducción de la absorbancia medida a 515 nm del radical DPPH•, por antioxidantes (Brand et al., 1995), a partir de una solución de concentración 40 mg/L de DPPH• disuelto en etanol. Se tomaron 40µL de extracto etanólico y se completó un volumen de 1000µL con la solución de DPPH•; la mezcla se homogenizó cuidadosamente y se mantuvo en oscuridad durante 30 min. El antioxidante sintético de referencia, Trolox, se ensayó a una concentración de 0,2 mM en etanol, en las mismas condiciones (de 20 a 160 µL). Los resultados se expresaron como mmol Trolox/kg tej. liofilizado. Las medidas se realizaron por triplicado para cada muestra analizada.

8.5. Determinación de la capacidad antioxidante mediante la metodología FRAP

La capacidad antioxidante fue determinada de acuerdo a la metodología de Pulido et al. (2000). El reactivo FRAP fue preparado diariamente y se mantuvo protegido de la luz, mediante la mezcla de buffer acetato (0,3 M pH 3,6) con una solución 10 mM de TPTZ (2, 4, 6 tripiridil-s triazina) en HCl 40 mM, y una solución 20 mM de FeCl₃·6H₂O, en una proporción de 10:1:1. Las soluciones del ensayo se prepararon mezclando 80 µL de agua destilada, 20 µL de extracto y 900 µL del reactivo de FRAP. El antioxidante sintético de referencia, Trolox, se ensayó a una concentración de 0,2 mM en etanol, en las mismas condiciones (de 20 a 160 µL). Tras incubar a temperatura ambiente, se tomaron los valores de absorbancia a 595 nm a los 10 min. Los resultados se expresan en mmoles equivalentes de Trolox/kg tej. liofilizado. Las medidas se realizaron por triplicado para cada muestra analizada.

9. Carotenoides totales

Se pesaron entre 0,3 y 0,5 g de tejido liofilizado en tubo Falcon, se añadió con 5 mL de hexano:acetona:etanol (2:1:1), la mezcla se mantuvo en agitación en vortex durante 1 min para facilitar la extracción. A continuación, se añadió 1 mL de agua destilada para lograr la separación de fases.

Finalmente se separó cuidadosamente la fase superior (hexano) y sobre ésta se midió la absorbancia a 454 nm en espectrofotómetro. Las medidas se realizaron por triplicado. El contenido de carotenoides se expresó como mg de β -caroteno por kg de tejido liofilizado (mg/kg) empleando $\epsilon^{\beta\text{-caroteno}}_{(\text{hexano}, 454\text{nm})} = 1,39 \times 10^5 \text{ l/M.cm}$.

10. Materia seca

Se determinó tanto en la piel como en la placenta de la fruta. Se pesaron 5 g de piel y se cortaron dos rodajas de la zona ecuatorial (placenta y semilla) de ≈ 3 mm de grosor con un peso inicial aproximado de 5 g. Por separado se secaron las muestras a 65 °C por convección por 24 h. La materia seca fue calculada por diferencia de peso inicial y final en cada caso.

11. Pérdida de peso

Las bandejas de fruta fueron pesadas el día de comienzo del ensayo y a distintos tiempos durante el almacenamiento. La pérdida de peso se expresó como porcentaje del peso respecto al valor inicial. Las determinaciones se realizaron para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento.

12. Índice de deterioro (ID)

Cada día de muestreo se evaluaron las bandejas de naranjilla de forma visual, mediante una escala subjetiva de 1 a 4 donde, 1 = sin daño, 2 = daño ligero, 3 = daño moderado y 4 = daño grave.

Los criterios que se consideraron para el análisis fueron:

Marchitez en el cáliz.- Este parámetro fue evaluado mediante la aparición o desarrollo estimado de mohos en el cáliz de cada fruto (**Figura 18a**), a través de la siguiente escala: 1 = no existe desarrollo aparente; 2 = existe desarrollo ligero; 3 = existe desarrollo moderado; 4 = muy desarrollados.

Daños físicos.- Se determinó mediante porcentaje con punteado circular o laminar de color negro (pardo oscuro) en la superficie (**Figura 18b**) mediante la siguiente escala: 1 = (0 %) sin presencia de manchas; 2 = (0 – 10 %) ligero; 3 = 10 – 20 % (moderado); 4 = (> 20 %) intenso.

Turgencia (depresiones en la piel).- Se determinó el número de presiones blandas en la superficie de cada fruto (**Figura 18c**) a través de la siguiente escala: 1 = (0 %) sin desarrollo; 2 = (0 -10 %) desarrollo ligero; 3 = (10 – 20 %) desarrollo moderado; 4 = (> 20 %) muy desarrollado.

Firmeza al tacto.- Patrón sensorial evaluado en varias zonas del fruto (cercano al pedúnculo, centro y base de cada fruta). La escala utilizada fue: 1 = firme, 2 = ligeramente suave, 3 = suave y 4 = blando.

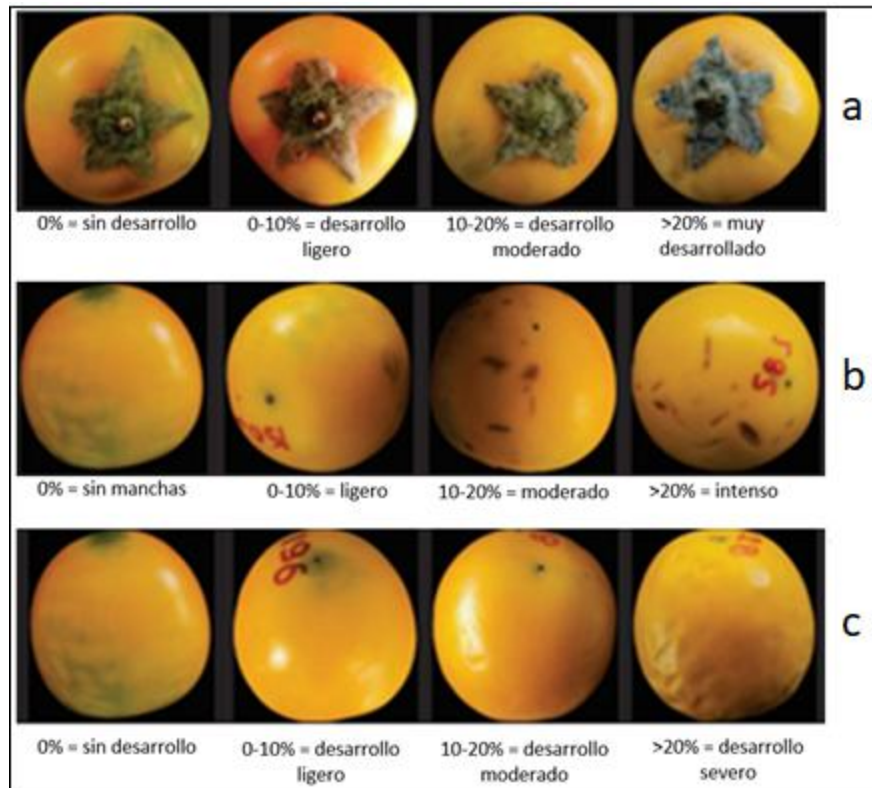


Figura 18 Escala de calificación del índice de deterioro (a) marchitez en el cáliz; (b) daños físicos y (c) turgencia

La evolución de cada síntoma de DPF se calculó según la siguiente ecuación:

$$\text{índice de cada criterio} = \frac{(\text{nivel de daño}) \cdot (\text{número de frutos por nivel})}{\text{total de frutos evaluados}}$$

El índice de deterioro (ID) se calculó como la sumatoria del índice de cada síntoma evaluado, dividido por 4 (número de síntomas de deterioro evaluados) de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\text{Índice de deterioro (ID)} = \frac{\sum \text{índice de cada síntoma}}{4}$$

13. Producción de etileno

Se pesaron 4 frutos y se colocaron en un sistema cerrado de 500 mL previamente adaptado. Se utilizó un medidor de etileno (Etileno Bioconservación ppm Ethylene), registrando el etileno producido (en ppm) durante una hora. Los análisis se realizaron por triplicado para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento. Los resultados se expresaron como producción de etileno ppm/kg·h

14. Análisis microbiológicos

Se colocaron aproximadamente 250 g de frutas enteras en un recipiente estéril por medio de guantes estériles y se agregó 225 mL de agua peptonada estéril hasta cubrir completamente los frutos agitando suavemente para desprender los microorganismos de la superficie y se dejó transcurrir aproximadamente 2 min (dilución 10^{-1}), a partir de esta se realizaron dos diluciones sucesivas (10^{-2} y 10^{-3}). De cada dilución se tomó una alícuota de 1 mL y se inoculó en placas Compact Dry para recuento de aerobios mesófilos totales (RT), mohos y levaduras (M+L). Cada dilución se sembró por duplicado. El cultivo bacteriano se incubó a 37 °C durante 24 h y el cultivo de mohos y levaduras se incubó a 25 °C durante 5 días. Los resultados se expresaron como el logaritmo del número de unidades formadoras de colonias por gramo de tejido (Log UFC/g). Se evaluaron 6 placas para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento.

15. Halo de infección

Se midió el diámetro del halo de infección utilizando una cinta métrica flexible. Los resultados se expresaron en mm. El análisis se realizó en 12 frutos (2 medidas por cada fruto) para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento.

16. Análisis de la pared celular

16.1. Aislamiento (Residuo insoluble en alcohol -RIA-)

Se pesaron 2 g de fruto liofilizado y molido, luego se extrajo con 100 mL de etanol y se homogeneizó con un dispersor de alta velocidad (IKA, Ultraturrax T25, Brasil). Las muestras se calentaron a ebullición en una platina por 20 min para asegurar la inactivación de enzimas y prevenir la autólisis de polisacáridos de pared celular. El material insoluble se filtró con una bomba de vacío y de forma secuencial se hicieron lavados con 40 mL de etanol, 40 mL de etanol:cloroformo (1:1 v/v) y 40 mL de acetona. El residuo obtenido se secó a 37 °C, obteniéndose el residuo insoluble en alcohol (RIA). El residuo seco se pesó. Se hicieron dos extracciones independientes para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento analizado. Los resultados se expresaron como g de RIA por cada g de fruto liofilizado.

16.2. Ácidos urónicos (AU)

La medida se llevó a cabo mediante el método de Blumenkrantz y Asboe- Hansen (1973). Alícuotas de 100 µL del aislado de pared celular (RIA) se adicionaron a tubos de ensayo conteniendo 200 µL de agua destilada. Luego estos se colocaron en un baño de agua-hielo y a cada uno se le adicionó 1 mL de borato de sodio 7,5 mmol/L (preparado en H₂SO₄ 98% p/p). Las muestras se agitaron con vortex y se incubaron

a 100 °C por 10 min. Posteriormente, los tubos se enfriaron en un baño de agua-hielo y a cada uno se le adicionaron 20 µL de m-fenilfenol (preparado en NaOH 0,5% p/v). Luego de agitar con un vortex se midió la absorbancia a 520 nm en un espectrofotómetro. Se hizo una curva de calibración con ácido galacturónico (100 µg/mL). Se analizaron 2 muestras independientes para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento y las medidas se realizaron por duplicado. Los resultados se expresaron como g por cada kg de fruto liofilizado.

16.3. Azúcares neutros (AN)

Las determinaciones se realizaron en tubos de ensayo (en baño de agua-hielo) conteniendo 100 µL del aislado de pared celular (RIA). A estos se agregó 150 µL de agua destilada y 1 mL de antrona 0,5 g/L (disuelta en H₂SO₄ 98% p/p). Las muestras se colocaron en baño de agua a ebullición durante 10 min y se enfriaron en un baño de agua-hielo. Finalmente se determinó la absorbancia a 620 nm en un espectrofotómetro (UV Mini-1240, Shimadzu Corporation, Japón). Se analizaron 2 muestras independientes y las medidas se realizaron por duplicado. Los resultados se expresaron como g por cada kg de fruto liofilizado.

17. Perfil fenólico

17.1. Preparación de la muestra

Se realizó en muestras de naranjilla seca. El proceso de secado se realizó por sublimación utilizando un liofilizador (LAB-KITS RD-18-ML), para lo cual las muestras fueron cortadas en porciones pequeñas (aproximadamente de 2 cm) y congeladas en nitrógeno líquido, posteriormente fueron sometidas a un proceso de secado utilizando presión reducida (T= -60°C; P= 1,0 kPa). Finalmente, las muestras fueron trituradas utilizando un molino de cuchillas y tamizadas hasta obtener un tamaño de partícula <1 mm y se almacenaron en frascos ámbar en un desecador hasta la realización de los análisis.

17.2. Preparación del extracto

Se pesó 0.3 gramos de muestra liofilizada en un tubo de centrifuga Falcon de 25 mL; se adicionó 5 mL de solución de metanol:agua al 70:30, posteriormente se agitó en un vortex por 3 min y en un baño ultrasonido por 10 min. El extracto se centrifugó por 5 min a 3000 ×g, se filtró por papel filtro cualitativo y se pasó a un balón aforado ámbar de 25 mL. Este proceso se repitió por 4 veces y finalmente se llevó a volumen con la solución de extracción (metanol:agua 70:30).

17.3. Determinación perfil fenólico

Se tomó 3 mL del extracto y se filtró a través de una membrana hidrofílica de 0,22 µm Millipore tipo PVDF. El extracto puro se transfirió a un vial ámbar y se inyectó 20 µL en un cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC, Agilent 1200-series) acoplado a detector de Arreglo de Diodos -DAD, bajo las siguientes condiciones: columna: AGILENT Eclipse XDB-C18 (4,6 x 250 mm, tamaño de partícula de 5 µm); temperatura de columna: 35 °C; flujo: 0,8 mL/min; detector: DAD a una longitud de onda 280 nm, se usó como fase móvil: A- agua:acetonitrilo:ácido fórmico (99:0,8:0,2) y B- Acetonitrilo y una bomba Binaria, gradiente de elución: 5% de B a 100% de B en 67 min. La cuantificación se realizó por comparación de las muestras frente a una curva de calibración realizada con estándar de ácido clorogénico en el rango de 5 a 20 mg/L. Los resultados se expresaron como mg de ácido clorogénico/100 g de muestra liofilizada.

18. Análisis del extracto etanólico de naranjilla por Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (CG-EM)

18.1. Preparación del extracto

Se pesó 0.5 g de muestra liofilizada en un tubo de centrifuga Falcon de 25 mL; se adicionó 10 mL de solución de etanol, posteriormente se agitó en baño de hielo durante 15 min. El extracto se centrifugó por 15 min a 6000 ×g, se filtró por papel filtro cualitativo y se alicuotó en viales hasta su análisis.

18.2. Análisis por Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (CG-EM)

Las medidas se realizaron en un instrumento Agilent modelo 5975 con un detector selectivo (IE: Impacto electrónico, 70 eV) de masas HP 5972, utilizando columna capilar DB5-MS Agilent (30 m x 250 µm x 0.25 µm) y helio como gas portador a un flujo de 0,5 ml/min. La inyección se realizó con un tiempo de purga de 1,0 min, en un inyector de fraccionamiento 1 µL. La temperatura de la columna fue mantenida a 100 °C por 1 min, luego 10 °C/min hasta 180 °C durante 3 min y finalmente a 10 °C/min durante 280 °C por 6 min y 1 min de poscorrida a 300 °C. El tiempo total de corrida fue de 28 min.

La identificación de los picos tomó en cuenta el grado de coincidencia > 95 % de los espectros de masas de la base de datos del Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (NIST14) y por comparación directa de datos publicados.

19. Determinaciones enzimáticas

19.1. Preparación del extracto para PPO y POX

Se tomaron aproximadamente 8 g de tejido congelado de cada tratamiento, se trituraron en un molinillo Philips minipimer, se colocaron en tubos Falcon y se adicionaron 12 mL de buffer fosfato (Na_2HPO_4 0,1M, KH_2PO_4 0,1M, pH 6). La suspensión obtenida se homogenizó y agitó por 30 min en baño de hielo y se centrifugó a 6000 \times g por 30 min a 4°C en una centrífuga (Hermle Labnet Z323K). El sobrenadante se almacenó en microviales a -20°C hasta su análisis. Para cada muestra se realizaron tres moliendas y de cada una se realizaron dos extractos.

19.2. Preparación del extracto para PAL

Se tomaron aproximadamente 8 g de tejido congelado de cada tratamiento, se trituraron en un molinillo Philips minipimer, se colocaron en tubos Falcon y se adicionaron 12 mL de buffer di-sodiotetraborato ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 0,1M) pH 8,8 con mercaptoetanol 50 mM y ácido etilen-diamino-tetraacético (EDTA) 2 mM. La suspensión obtenida se homogenizó y agitó por 30 min en baño de hielo y se centrifugó a 6000 \times g por 30 min a 4°C. El sobrenadante se almacenó en microviales a -20°C hasta su análisis. Para cada muestra se realizaron tres moliendas y de cada una se realizaron dos extractos.

19.3. Medición de la actividad enzimática de PPO

Se determinó según la metodología de Lemoine et al., (2010) con ligeras modificaciones. Una muestra de 300 μL de extracto enzimático fue transferido a un tubo de ensayo que contenía 550 μL de buffer fosfato (Na_2HPO_4 0,1M, KH_2PO_4 0,1M, pH 6), luego se agregó 150 μL de 4-metilcatecol 100 mM como sustrato, con un volumen final de reacción de 1000 μL . La mezcla de reacción se llevó a un baño térmico a 35°C, se homogenizó y se incubó por 10 min. La actividad se midió a 410 nm en un espectrofotómetro (Thermo Scientific Evolution 60S) a través del incremento en la absorbancia. Una unidad de actividad enzimática (UAE) de PPO se definió como la variación de 0,001 unidades de densidad óptica (absorbancia) por min, bajo las condiciones de ensayo. Los resultados se expresaron como UAE/mg proteína total. Las medidas se realizaron por triplicado.

19.4. Medición de la actividad enzimática de POX

Se determinó según el método de Zhang et al., (2012) con modificaciones. Para la mezcla de reacción se utilizó 850 μL de buffer fosfato (Na_2HPO_4 0,1M, KH_2PO_4 0,1M, pH 6), 100 μL de extracto enzimático, 500 μL guayacol 0.25 % (v/v) y 300 μL de H_2O_2 100 mM, con un volumen final de 1750 μL . La mezcla se homogenizó e inmediatamente se midió el incremento de la absorbancia a 470 nm en un

espectrofotómetro (Thermo Scientific Evolution 60S), durante 2 min a temperatura ambiente ocasionado por la formación del producto de dehidrogenación del guayacol. Una unidad de actividad enzimática (UAE) de POX se definió como la variación de 0,1 unidades de densidad óptica (absorbancia) por min, bajo las condiciones del ensayo. Los resultados se expresaron como UAE/mg proteína total. Las medidas se realizaron por triplicado.

19.5. Medición de la actividad enzimática de PAL

Se determinó según el método de Yao y Tian, (2005) con modificaciones. Para la mezcla de reacción se colocó en un tubo 1850 μL de buffer, $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 0,1 M pH 8.8, 100 μL de L-fenilalanina 0.01M y 50 μL de extracto enzimático, con un volumen final de 2000 μL . La mezcla de reacción se homogenizó y se incubó por 48 h en un baño térmico a 35 °C. El incremento de absorbancia se midió a 290 nm durante 48 h en un espectrofotómetro (Thermo Scientific Evolution 60S) ocasionada por la producción de ácido trans-cinámico. Una unidad de actividad enzimática (UAE) de PAL se definió como la variación de 0,0001 unidades de densidad óptica (absorbancia) por h, bajo las condiciones del ensayo. Los resultados se expresaron como UAE/mg proteína total. Las medidas se realizaron por triplicado.

19.6. Determinación del contenido de proteínas de los extractos enzimáticos

Se determinó según el método de Lowry (Matsuda y Kubota, 2010) en los extractos de cada enzima. La concentración de proteína fue calculada usando albúmina sérica bovina (BSA) como estándar proteico, con una curva de calibración de 20 a 140 μg BSA/mL.

20. Calidad panadera

Para determinar la calidad del producto panificado (pan control y pan de naranjilla) se determinó el color de la corteza y miga, humedad, volumen específico, alveolado de miga y el perfil de textura.

20.1. Color de la corteza y miga

Luego de 24 h del horneado del pan se midió el color de la corteza y miga utilizando el espacio rectangular CIE L^* , a^* y b^* ; se tomaron 30 medidas de color de la corteza y 30 medidas de color para la miga, a partir de 10 panes; usando un colorímetro CR-400 Konica Minolta. Se determinó el índice de pardeamiento o *browning index* (BI) según la metodología de Sui et al., (2015) usando las siguientes ecuaciones: $BI = [100(x-0,31)]/0,172$; y $x=(a+1,75L)/(5,645L + a - 3,012b)$.

20.2. Humedad

Se determinó según el método NTE INEN ISO 712, mediante secado en estufa de convección forzada por 2 h a 135 °C.

20.3. Volumen específico

Fue determinado con el volumenómetro de pan (Surco y Alvarado, 2010) que consta de 2 recipientes en forma de cilindro exactamente iguales, con un tubo cilíndrico calibrado en el medio. Previo a las mediciones se calibra el volumenómetro con un cubo de volumen específico (400 cm³) que contiene semillas de amaranto. El volumen específico del pan se calculó usando la ecuación: $U = v/m$, donde U = volumen específico del pan (mL), v = volumen desplazado (mL) y m =masa del pan (g).

20.4. Alveolado de miga

Se realizó el escaneo de 9 rodajas de diferentes panes con el uso de un escáner Epson L355, con una resolución de 350 dpi, las imágenes fueron procesadas a través del programa ImageJ versión 143 analizando la imagen de la miga, según la metodología de Correa (2012). Se obtuvo una imagen de 2,7 cm x 2,7 cm del centro de la rodaja del pan y se convirtió al sistema de color RGB en 8 bit en escala de grises y finalmente se binarizó (**Figura 19**); en esta imagen los alvéolos se representaron en negro y sus paredes en blanco.

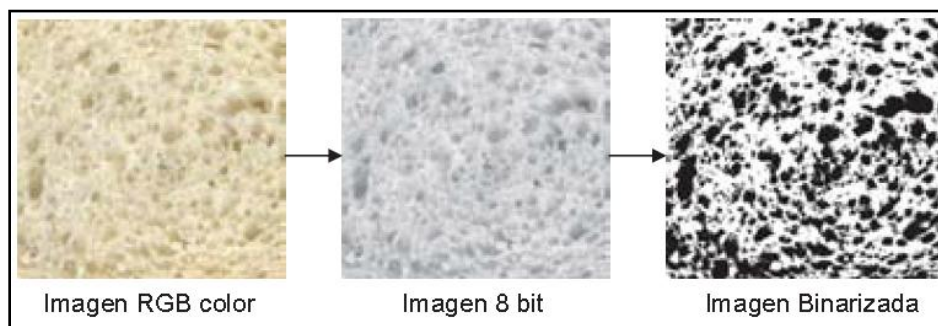


Figura 19 Secuencia de análisis de alveolado de miga con imagen binarizada para pan realizado con programa Image J

Previo al análisis de la imagen de los panes se realizó una calibración en el mismo programa con el uso de una regla de 10 cm, escaneada, donde la distancia de 1 cm correspondió a 138 píxeles. Las características analizadas de la miga fueron: número de alvéolos, área alveolar (promedio y moda), fracción de aire (relación entre el área alveolar y el área total), circularidad y perímetro alveolar; el valor de umbral alveolar fue de 0,002 cm²; definiendo a las zonas superiores a este umbral en la imagen como

alvéolos. La circularidad fue determinada como el cociente entre el área del alvéolo y el área de un círculo con igual perímetro ($\text{circularidad} = 4\pi (\text{área}/\text{perímetro}^2)$), al ser un caracterizador de forma adimensional relacionado con el grado de compactación tomaron valores entre 0 y 1.

20.5. Análisis de perfil de textura (TPA)

Se aplicó la metodología de Bourne (2002) en un texturómetro TA- XT2i (Stable Micro Systems); el pan se comprimió hasta un 40% de la altura original mediante una sonda cilíndrica SP25, a una velocidad de 0,5 mm/s. La curva típica obtenida en un TPA se muestra en la **Figura 20**.

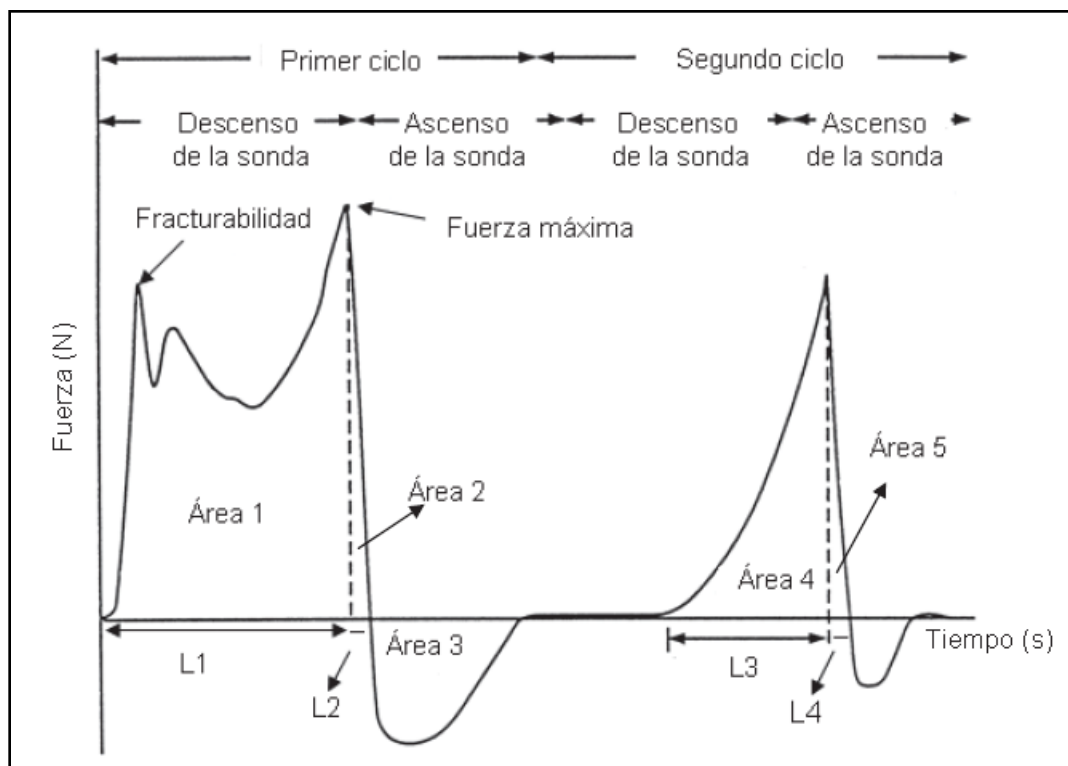


Figura 20 Curva general de perfil de textura realizada en un texturómetro. (Fuente: Correa, 2012)

Los parámetros obtenidos (dureza, cohesividad, elasticidad, adhesividad, resiliencia y consistencia, según se muestra en la **Tabla 5**) se calcularon con el uso del software Texture Expert para Windows. Los ensayos se realizaron por triplicado.

Tabla 5 Parámetros de textura que se calculan con los datos obtenidos en las corridas de análisis de perfil de textura mostrados en Figura 20.


Parámetro	Concepto
Dureza	<p>Fuerza máxima que se registra en el primer ciclo de compresión; donde se realiza la máxima deformación del producto.</p> $Dureza = F1$
Cohesividad	<p>Se relaciona con la fuerza de los enlaces entre los componentes que forman el producto. Se calcula como el cociente entre el área positiva del segundo ciclo y el área positiva del primer ciclo, según la ecuación:</p> $Cohesividad = (\text{área 4} + \text{área 5})/(\text{área 1} + \text{área 2}).$
Elasticidad	<p>Se relaciona con la recuperación del material luego de la primera compresión. Es el cociente entre la distancia necesaria para alcanzar el máximo del segundo pico y la distancia para alcanzar el máximo del primer pico. Se calcula según la ecuación:</p> $Elasticidad = L3/L4.$
Adhesividad	<p>Indica el trabajo necesario para vencer las fuerzas de atracción entre la superficie del alimento y los materiales con los cuales tome contacto. Se calcula como el área del pico negativo (área 3),</p> $Adhesividad = \text{área 3}$
Resiliencia	<p>Se relaciona con la recuperación instantánea del material. Se calcula como el cociente entre el área del primer ciclo luego del máximo y el área del primer ciclo hasta alcanzar el máximo, según la ecuación:</p> $Resiliencia = \text{área 2} / \text{área 1}.$
Consistencia	<p>Se calcula como la suma de las áreas del primer y del segundo pico, según la ecuación:</p> $Consistencia = (\text{área 1} + \text{área 2}) + (\text{área 4} + \text{área 5}).$

20.6. Análisis sensorial

La evaluación sensorial se realizó con muestras de pan cortadas en rebanadas de 1.5 cm de espesor, en este análisis se determinó la aceptación de la formulación planteada frente a un panel de 100 consumidores (con edades entre 18-60 años) quienes evaluaron el pan de naranjilla mediante un test con grados de aceptación de acuerdo a una escala hedónica de nueve puntos (donde, 1: disgusto extremo, 5: ni le gusta ni le disgusta, 9: gusto extremo); se utilizó agua para enjuagar la boca antes de la prueba, según las recomendaciones de Gawlik-Dziki et al. (2014). Los criterios evaluados fueron: apariencia, color, aroma, sabor, suavidad y aceptabilidad global, según se muestra en la **Figura 21**.

ENCUESTA DE ACEPTABILIDAD

Por favor deguste el pan de naranjilla y evalúe los parámetros presentados a continuación, dependiendo de su aceptabilidad. Señale con una línea vertical según el ejemplo:



APARIENCIA

Me disgusta mucho | NI me gusta, NI me disgusta | Me gusta mucho

COLOR

Me disgusta mucho | NI me gusta, NI me disgusta | Me gusta mucho

AROMA

Me disgusta mucho | NI me gusta, NI me disgusta | Me gusta mucho

SABOR

Me disgusta mucho | NI me gusta, NI me disgusta | Me gusta mucho

SUAVIDAD

Me disgusta mucho | NI me gusta, NI me disgusta | Me gusta mucho

ACEPTABILIDAD GLOBAL

Me disgusta mucho | NI me gusta, NI me disgusta | Me gusta mucho

Comentarios:

Gracias por su colaboración!

Figura 21 Planilla utilizada en el análisis de aceptabilidad del pan de naranjilla

21. Digestión *in vitro* y capacidad antioxidante

En esta etapa se evaluó el efecto de la variación del pH en los cambios experimentados por los compuestos antioxidantes en el producto panificado (pan de naranjilla y pan control) a lo largo de la digestión y en presencia de enzimas: α -amilasa en etapa de masticación, pepsina en la etapa gástrica y pancreatina y sales biliares en la etapa intestinal.

- **Etapa de masticación:** condiciones de pH básico y presencia de α -amilasa.- Se determinó la relación 3:1 de FSS (Flujo salival simulado) y alimento ingerido, respectivamente. Por cada 20 g de pan triturado se adicionó 60 mL de FSS, compuesto por 1 mg/mL de α -amilasa, disuelto en la mezcla de solución buffer de 2,38 g Na_2HPO_4 , 0,19 g de KH_2PO_4 con 8 g NaCl diluidos en 1 L de agua destilada. La digestión se realizó bajo agitación a 37°C por 10 min.

- **Etapa gástrica:** condiciones de pH ácido y presencia de pepsina.- En esta etapa se utilizó 0,32 % de pepsina diluida en la solución de 0,03 M NaCl, hasta llegar a pH 1,2 con HCl 5 M para obtener 60 mL de FGS; el cual se adicionó al fluido de la etapa anterior y se mantuvo en agitación durante 120 min a 37 °C.

- **Etapa duodenal:** condiciones de pH básico y presencia de pancreatina y sales biliares.- El fluido intestinal simulado (FIS) necesario en esta fase se preparó mediante la dilución de 0,10 g de pancreatina y 0,6 g de sales biliares en 60 mL 0,1 M NaHCO_3 alcanzando un pH de 6, posteriormente se ajustó nuevamente a pH 7 con 1 M NaOH; finalmente se adicionó 10 mL de 120 mM NaCl y 10 mL de 5 mM KCl y se mantuvo en agitación constante durante 60 min a 37 °C (Gawlik-Dziki et al., 2009).

- **Fenoles totales (FT), capacidad antioxidante total (TEAC-ABTS) y carotenoides totales (CT).**- En cada etapa de digestión (masticación, gástrica y duodenal) se tomaron muestras de 7 mL que se conservaron en congelación a -20 °C para posteriormente determinar el contenido de FT, capacidad antioxidante (TEAC-ABTS) y CT. Las alícuotas obtenidas en cada fase se procesaron como extracto etanólico para FT y TEAC-ABTS y como extracto etéreo para CT (según se detalla en las **secciones 2.8.2; 2.8.3 y 2.9**) y fueron centrifugadas en condiciones de 4000 \times g (4 °C por 30 min) y luego se filtraron (Torres Escribano, 2011); en cuanto a la etapa duodenal se tomó una alícuota que fue transferida a la membrana de diálisis dentro de un vaso de precipitación que contenía buffer (pH = 7) y fue incubada durante 4 h a 37 °C. Los compuestos antioxidantes pasan a través de la membrana y son tratados como el equivalente absorbido en el intestino posterior a la digestión, es decir se separó el residuo y la fracción soluble en el organismo, determinándose como la fracción bioaccesible en relación al producto fresco. Los resultados se expresaron como mg catequina/kg pan para FT, mg β -caroteno/kg pan para CT y mmoles Trolox/kg pan (base húmeda) para TEAC.

- **Porcentaje de bioaccesibilidad.**- Fue calculado como la cantidad total de FT, CT y TEAC bioaccesible recuperado en las muestras dializadas en relación a la cantidad total de FT, CT y TEAC en el producto fresco, según la metodología descrita por Hemery et al., 2010.

C. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó un diseño factorial A x B. Los resultados se analizaron utilizando el paquete informático InfoStat versión 2010 (Grupo Infostat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina) con un análisis de varianza (ANAVA). Las medias fueron comparadas mediante la prueba de LSD con un nivel de confianza de 0,05.

Para clarificar las relaciones entre los parámetros y la calidad poscosecha de la naranjilla se aplicó el análisis de componentes principales (PCA) en: 1) parámetros fisicoquímicos y antioxidantes vs variedades y grado de madurez, 2) parámetros fisicoquímicos, microbiológicos y antioxidantes vs tratamientos poscosecha y 3) actividad enzimática vs tratamientos poscosecha. Se utilizó el paquete informático Statistica (Versión 11.0, StatSoft Inc. USA).

Capítulo I



**Efecto del grado de madurez
sobre la calidad de tres variedades de
naranjilla (*Solanum quitoense* Lam)**

I. INTRODUCCIÓN

La maduración de los frutos es el resultado de una secuencia de cambios morfológicos, fisiológicos y bioquímicos que conducen a la formación de un fruto apto para el consumo humano. Estos cambios se dan en tres niveles: fisiológico, bioquímico y sensorial. Los procesos de maduración son programados genéticamente y están asociados al aumento del tamaño potencial máximo del fruto, también se reduce la velocidad de crecimiento y disminuye la concentración de etileno. Los cambios bioquímicos y fisiológicos resultantes del proceso de maduración confieren atributos positivos (como el metabolismo de azúcares, cambios en el color y textura, síntesis de compuestos volátiles para el desarrollo de sabor y aroma) y negativos (como la mayor susceptibilidad al ataque de patógenos) en el producto (Adams-Philips et al., 2004).

Debido a la importancia económica de productos vegetales como las frutas los procesos de maduración han sido ampliamente estudiados a nivel bioquímico y genético ya que están directamente relacionados con la calidad del producto y sus características nutricionales (Alexander y Grierson, 2002; Giovannoni, 2001), es así que cualquier agente que influya sobre los procesos de maduración podrá afectar, por ejemplo, sobre el contenido y composición de la fibra, el metabolismo de lípidos, los niveles de vitaminas y antioxidantes, entre otros. La magnitud de los cambios, la secuencia de ellos y los efectos causados pueden ser propios de cada especie y desde esta perspectiva su estudio representa una oportunidad para generar nuevos conocimientos sobre los mecanismos reguladores del desarrollo de las plantas (Valero y Serrano, 2010; Giovannoni, 2001). En este sentido se han desarrollado numerosos estudios con el fin de conocer las características fisicoquímicas de los frutos y la variación del contenido de compuestos bioactivos tanto en diferentes grados de madurez como en diferentes variedades de una misma especie.

Una variedad agrícola se define como un grupo de plantas similares que se diferencian de otras debido a sus características estructurales y de comportamiento dentro de una misma especie. Esta variedad debe ser sobresaliente para cualquier lugar y debe tener una combinación de caracteres genéticos que le permitan producir altos rendimientos de calidad aceptable por parte del consumidor (Arévalo et al., 2006).

Así, Olsson et al. (2004) determinaron la influencia del cultivar, grado de madurez y condiciones de almacenamiento sobre características como pH, sólidos solubles y contenido de compuestos antioxidantes como ácido clorogénico y ácidos cumárico, ácido ascórbico y dehidroascórbico y capacidad antioxidante en frutilla; inclusive encontraron diferencias consistentes entre años de cosecha

probablemente debido a diferentes condiciones ambientales. Por otro lado, Seymour et al. (1990) mostraron marcadas diferencias en la respuesta de mango al almacenamiento refrigerado según la variedad, del grado de madurez y en particular al tiempo de cosecha durante la estación. Por ejemplo, los principales efectos en el retraso de la maduración se observaron en las variedades "Amelie" y "Sensation" según el grado de madurez; en tanto que en la variedad "Kent" se encontraron diferencias significativas debido, además del grado de madurez, a la fecha de cosecha. En este sentido, los estudios fisiológicos y bioquímicos en grados de madurez y tiempos de cosecha permiten establecer las diferencias en el comportamiento de los frutos durante el almacenamiento.

En países productores de naranjilla (*Solanum quitoense*), como Ecuador y Colombia, el mejoramiento genético se inició para dar solución a los problemas de nematodos que se encontraban en las plantaciones de las zonas amazónicas. Las nuevas variedades se multiplican y se distribuyen a los agricultores para que se puedan producir de acuerdo a su zona agroecológica. De los diferentes cruzamientos entre *Solanum hirtum* y *Solanum quitoense* se desarrollaron plantas sin espinas, frutos más grandes y de sabor agradable, resistentes a nematodos, pulpa de color verde, tricomas en el fruto (Urbina, 2008). Es así que en la sección 1.3 del presente trabajo de Tesis se han presentado diversas variedades y sus atributos. En particular, aquí se trabajará con las variedades INIAP Quitoense 2009, Baeza y Agria (**Figura 3**).

En diferentes estudios se busca determinar la influencia del grado de maduración al momento de la cosecha sobre las características fisicoquímicas de los frutos (Casasierra-Posada y Aguilar-Avendaño, 2008). Se han encontrado diferencias en el tiempo comprendido entre el tiempo de corte y el de maduración completa, en dependencia con el grado de madurez en el que se cosechan (Ferreira et al., 2005). Los métodos de análisis que se apliquen deben ser sensibles, prácticos y rápidos y deben permitir determinar el *ratio* para que sea comparable con productos de otra región o variedad. Usualmente, se realizan determinaciones de tamaño, color, firmeza además de características químicas como pH, acidez titulable, sólidos solubles e intensidad respiratoria, entre otros (Pinzón et al., 2007).

El conocimiento de las variaciones en contenido de nutrientes y avance del deterioro una vez que se cosechan los frutos es crucial para poder comercializar el producto en regiones distantes e inclusive para la exportación. Por ejemplo, la variedad de tomate platense es altamente perecible, mientras que las variedades de tomate redondo permiten ser comercializadas en puntos distantes. Asimismo, distintas variedades de un mismo producto pueden presentar aptitudes para diferentes usos o destinos. El tomate perita se emplea habitualmente para la preparación de concentrados o salsas por su mayor contenido de materia seca, mientras que el tomate cherry se destina a su consumo en fresco, en la

preparación de platos gourmet. En el caso de manzanas, las variedades como "Ernestina", "Pericos", "Carrió" presentan contenido de azúcar, taninos y acidez característicos para la producción de sidra, en tanto que la variedad "Pink Lady" debido a su alto contenido de jugo es utilizada para la elaboración de zumos; mientras que variedades como "Royal Gala" y "Fuji" son ideales para su consumo en fresco. Asimismo, las variedades de naranjilla son seleccionadas para su procesamiento según su acidez y contenido de azúcares, por ejemplo, la variedad "Agria" es utilizada para la fabricación de helados y refrescos, la variedad "Baeza" se usa para preparación de dulces y refrescos y la variedad "INIAP-Quitoense 2009" se usa para consume en fresco y es utilizada para la producción de pulpas.

El grado de madurez de la naranjilla se basa en el desarrollo de su color superficial. Sin embargo, este parámetro no es suficiente para decidir su momento de cosecha, debido a las diversas irregularidades de los frutos y de las variedades. González-Loiza et al. (2014) y Mejía et al. (2012), determinaron los cambios en las propiedades fisicoquímicas de naranjilla, cosechadas en diversos grados de madurez. Estos estudios tuvieron por finalidad definir el tiempo óptimo de cosecha para alcanzar la mejor calidad del fruto para su futuro consumo. También, Acosta et al. (2009), realizaron la caracterización química, propiedades antioxidantes y compuestos volátiles de cultivos de naranjilla, localizados en Costa Rica, cosechados en grado de madurez comercial. Debido al alto potencial que presenta la naranjilla en Latinoamérica como ingrediente de jugos, néctares, helados, salsas, entre otros, la caracterización de los diferentes cultivos será fundamental para aumentar el valor de este cultivo en mercados locales y regionales tanto como fruta fresca y como materia prima para su procesamiento industrial. En general, el uso industrial de la variedad de naranjilla "Agria" es muy limitado debido a la zona de cultivo por lo que se comercializa localmente (región amazónica del Ecuador), mientras que las variedades "Baeza" y en mayor medida la variedad "INIAP" son comercializadas en mercados a nivel nacional principalmente en las regiones de la sierra y la costa, para su consumo directo y para la elaboración de productos procesados.

La naranjilla es un producto perecible lo que limita sus posibilidades de exportación, por ello es importante conocer el comportamiento del fruto y mejorar las prácticas de recolección, evaluar la aplicación de tratamientos poscosecha, así como alternativas de uso y comercialización. Aspectos que abordaremos a lo largo de la presente Tesis.

Como primera parte de este trabajo de Tesis Doctoral se estudió el efecto del grado de madurez sobre la calidad fisicoquímica y nutricional de tres variedades de naranjilla (*Solanum quitoense* Lam).

I. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

I.1. CALIDAD DE FRUTOS DE NARANJILLA CON GRADO DE MADUREZ 3 Y 5

I.1.1. Dimensiones y rendimiento de pulpa

La naranjilla es un fruto que se caracteriza por su sabor agri dulce y aroma con notas de piña, kiwi, maracuyá y banana (Acosta et al., 2009) siendo un fruto muy apetecido. En la **Figura I.1** se observa la apariencia de los frutos de naranjilla de las variedades INIAP-Quitoense 2009, Baeza y Agria en sus grados de madurez 3 y 5. Los frutos cosechados en grado de madurez 3 podrían alcanzar el grado de madurez 5 en aproximadamente 5 días si son mantenidas a 30 °C y 50 % HR (Casasierra-Posada et al., 2004).

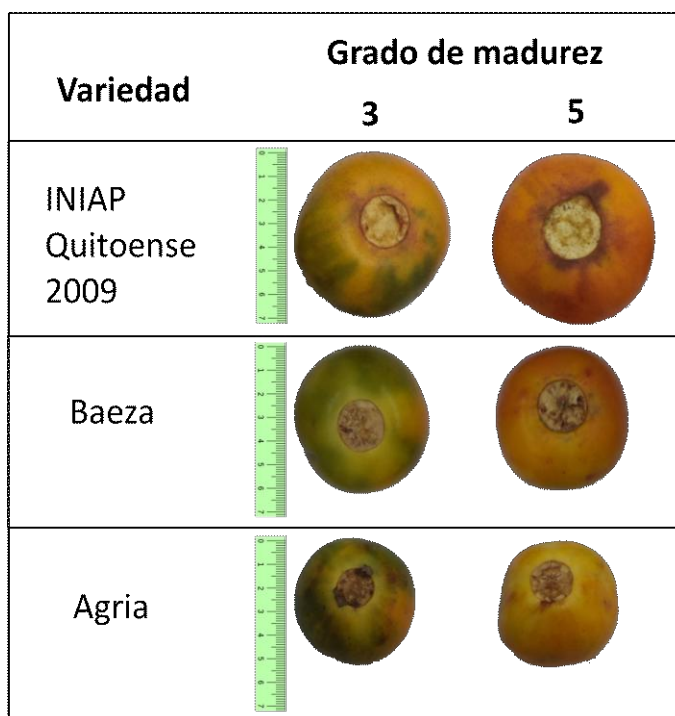


Figura I.1 Apariencia de los frutos de naranjilla de las variedades INIAP Quitoense 2009, Baeza y Agria en sus grados de madurez 3 y 5

La variedad INIAP-Quitoense 2009 presentó mayores dimensiones que el resto de las variedades. Así, mostró los mayores valores de peso, perímetro, alto, volumen y densidad; mientras que la variedad Baeza fue intermedia y la variedad Agria la de menores dimensiones.

En particular, la variedad INIAP-Quitoense 2009 presentó un peso 50 y 40% mayor y un volumen 58 y 65% mayor que las variedades Baeza y Agria, respectivamente (**Tabla I.1**). Con el avance del grado de madurez, no se encontró diferencia significativa en el peso de los frutos para las tres variedades.

Contrariamente, González-Loaiza et al. (2014) reportaron una disminución del peso con el avance del grado de madurez de naranjilla. Únicamente la variedad INIAP presentó un incremento del volumen del 10% entre el estado 3 y 5, mientras que en las otras dos variedades el volumen disminuyó a medida que avanzó el grado de madurez, al igual que lo reportado por González-Loaiza et al. (2014). Estas variaciones ocasionaron pequeñas modificaciones en la densidad de los frutos con el avance del grado de madurez. Así, la densidad disminuyó para la variedad INIAP, mientras que aumentó ligeramente para las variedades Baeza y Agria.

Tabla I.1 Peso, volumen, perímetro, alto, densidad y rendimiento de pulpa de naranjilla de las variedades INIAP Quitoense 2009, Baeza y Agria en sus grados de madurez 3 y 5. Letras distintas indican diferencias de acuerdo al test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$

Parámetro	Variedad	Grado de madurez	
		3	5
Peso (g)	INIAP	164,2 ± 21,1 ^a	168,1 ± 11,1 ^a
	Baeza	82,8 ± 10,6 ^b	81,5 ± 10,5 ^b
	Agria	64,7 ± 17,4 ^c	60,9 ± 16,9 ^c
Volumen (cm ³)	INIAP	159,3 ± 20,3 ^b	178,2 ± 23,8 ^a
	Baeza	115,6 ± 17,2 ^c	106,0 ± 15,6 ^d
	Agria	67,2 ± 20,8 ^e	60,9 ± 16,4 ^e
Densidad (g/cm ³)	INIAP	1,03 ± 0,04 ^a	0,94 ± 0,04 ^d
	Baeza	0,71 ± 0,04 ^f	0,77 ± 0,07 ^e
	Agria	0,97 ± 0,08 ^c	0,99 ± 0,04 ^b
Perímetro (cm)	INIAP	22,1 ± 1,2 ^b	23,2 ± 0,8 ^a
	Baeza	18,3 ± 0,8 ^c	18,12 ± 1,1 ^c
	Agria	16,2 ± 1,2 ^d	15,7 ± 1,4 ^e
Longitud (cm)	INIAP	5,6 ± 0,4 ^b	5,8 ± 0,3 ^a
	Baeza	4,9 ± 0,2 ^c	4,9 ± 0,2 ^c
	Agria	4,3 ± 0,4 ^d	4,2 ± 0,4 ^d
Rendimiento de pulpa (%)	INIAP	68,5 ± 2,7 ^{ab}	68,7 ± 3,8 ^a
	Baeza	66,5 ± 2,8 ^{bc}	64,7 ± 2,1 ^c
	Agria	55,5 ± 4,4 ^d	51,4 ± 5,1 ^e

Los mayores valores de perímetro y longitud también se encontraron en la variedad INIAP (**Tabla I.1**). No se presentaron cambios significativos entre los estados 3 y 5 para las variedades Baeza y Agria, mientras que la variedad INIAP presentó un ligero incremento. Resultados similares se reportan en mirtilo (*Eugenia gracillima* Kiaersk) y en mora (*Rubus glaucus*) donde se observan ligeras variaciones del perímetro del fruto durante el avance de la maduración (Ribeiro de Araujo et al., 2016; Carvalho y Betancur, 2015). Según la norma técnica ecuatoriana (NTE INEN 2 303:2009) la variedad INIAP presenta un calibre grande y las variedades Baeza y la variedad Agria presentan un calibre pequeño. La legislación nacional presenta como estándar técnico a características de la variedad Puyo, por lo que es necesaria la

revisión y adaptación a las necesidades actuales del país, ya que en el mercado nacional se comercializan diferentes variedades de naranjilla tomando en cuenta que características físicas como el tamaño, peso, longitud y perímetro son variables que influyen en la discriminación de la calidad de los frutos (Carvalho y Betancur, 2015).

El análisis del rendimiento de pulpa se realiza con el fin de potenciar el uso industrial de diferentes variedades de frutos. Los valores obtenidos son similares a los reportados por González-Loiza et al. (2014). En este sentido, la variedad INIAP presentó 5 y 20% mayor rendimiento de pulpa que las variedades Baeza y Agria, respectivamente (**Tabla I.1**). A medida que avanzó la madurez, no se encontraron diferencias significativas en el rendimiento de pulpa poniendo en evidencia que ya en el fruto de grado 3 se han desarrollado varios aspectos estructurales y restan avanzar aquellos de tipo sensorial. Sin embargo, en otros frutos tanto el avance sensorial como estructural avanza hasta el final, mostrando diferencias en el rendimiento de pulpa con el grado de madurez. Tal es el caso de granadilla (*Passiflora leylana*, Jiménez et al., 2011) y chirimoya (*Annona cherimola*, Salazar et al. 2007).

En resumen, la variedad INIAP-Quitoense 2009 presentó las mayores dimensiones que acompañada a la mayor densidad termina teniendo un mayor rendimiento de pulpa. Esto la posiciona como la variedad adecuada para ser destinada al procesamiento, más que a la comercialización en fresco. La variedad Agria es la de menor tamaño y menor rendimiento de pulpa. Finalmente, la variedad Baeza posee cualidades intermedias, que la posicionan como una variedad con buenas aptitudes para su comercialización en fresco.

También pudo apreciarse que, para todas las variedades, el crecimiento del fruto está casi completo en el grado de madurez 3, ya que no muestra mayores modificaciones hacia el grado 5.

I.1.2. Color

El color es un atributo de calidad tomado en cuenta por el consumidor en el momento de la decisión de compra y constituye además un índice de madurez de las frutas (Álvarez-Herrera et al 2009; Knee, 2002). La determinación de los parámetros de color de la naranjilla complementa la información presentada en la normativa nacional en la que se presentan 5 grados de madurez usando una escala subjetiva para clasificar a los frutos por su color externo. Esto se debe a que se comienza a perder el color verde y avanza el color amarillo, naranja o rojo, dependiendo de la variedad y su color final. Aquí, las tres variedades avanzan hacia colores amarillo-naranja (**Figura I.1**), se observaron incrementos de 7-10 unidades de valores de luminosidad L^* , en tanto que los parámetros a^* y b^* presentaron mayor

variación con incrementos de 19-23 y 12-20 unidades, respectivamente, entre los grados 3 y 5 para las tres variedades. Los valores de a^* se incrementaron de valores negativos a positivos indicando la pérdida de color verde relacionada exclusivamente con la pérdida de clorofila (Ferrer et al. 2005). Los valores de b^* se incrementaron denotando una mayor componente del color amarillo. La variedad INIAP presentó mayores valores de L^* , a^* y b^* que Baeza y Agria (**Tabla I.2**). El desarrollo de color durante la maduración se asocia con la acumulación de pigmentos o compuestos bioactivos como antocianinas o carotenos en reemplazo de la clorofila que se descompone por acción enzimática de clorofilasa y clorofila oxidasa (Arteaga-Dalgo et al., 2014).

Tabla I.2 Parámetros de color: L^* (luminosidad), a^* (verde-rojo) y b^* (azul-amarillo) de naranjilla de las variedades INIAP Quitoense 2009, Baeza y Agria en sus grados de madurez 3 y 5. Letras distintas indican diferencias de acuerdo al test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$

Parámetro	Variedad	Grado de madurez		
		3	5	
Color	L*	INIAP	61,35 ± 4,26 ^d	68,39 ± 2,56 ^a
		Baeza	63,94 ± 3,83 ^c	69,06 ± 2,18 ^a
		Agria	55,83 ± 3,95 ^e	65,96 ± 1,92 ^b
	a*	INIAP	-2,82 ± 0,07 ^c	18,74 ± 5,34 ^a
		Baeza	-3,59 ± 0,34 ^c	15,94 ± 4,57 ^a
		Agria	-5,67 ± 0,21 ^d	17,91 ± 2,99 ^b
	b*	INIAP	56,62 ± 5,98 ^c	70,88 ± 4,09 ^a
		Baeza	58,53 ± 6,89 ^c	71,43 ± 2,90 ^a
		Agria	46,47 ± 4,21 ^d	66,59 ± 2,90 ^b

I.1.3. Propiedades fisicoquímicas

Como parte de la caracterización de calidad de los frutos y del comportamiento fisiológico durante la maduración se realiza la determinación de pH, AT, SS y *ratio*. Estos atributos influyen en el sabor o calidad de consumo (Knee, 2002) que depende del tipo y concentración de azúcares (dulzor), tipo y concentración de ácidos (acidez) la concentración de compuestos fenólicos (astringencia) y concentración de compuestos volátiles (aroma). Los frutos de naranjilla variedad INIAP presentaron mayor pH, SS y *ratio* y menor AT que Baeza y Agria, mientras que la variedad Agria se destacó por bajos valores de pH (2,78) altos de acidez (2,86 g/100g) poniendo en evidencia su gran sabor ácido por excelencia y que hace honor a su nombre, aún en el grado de madurez 5 considerado como óptimo. Mientras que, la variedad Baeza presentó valores intermedios entre las otras dos variedades para estos tres parámetros (pH=3,18; AT=2,5 y SS=6,0). Valores similares fueron encontrados en naranjilla cultivada en Colombia (González-Loiza et al., 2014). Durante el proceso de maduración comúnmente se observa el

incremento de SS debido a la degradación del almidón y acumulación de azúcares como glucosa o fructosa, existe una disminución del pH que estaría dada por la acumulación de ácidos orgánicos. A la vez se produce una disminución de la AT por degradación de ácidos que son sustrato en los procesos de respiración y en consecuencia existe un aumento del *ratio* que se toma como un índice de calidad organoléptica (Gonzalez-Loaiza et al., 2014; Fawole y Opara, 2013; Álvarez-Herrera et al., 2009, Casasierra-Posada y Aguilar-Avendaño, 2008; Aubert y Chanforan, 2007). Entre los grados de madurez 3 y 5 se observaron estas variaciones, que, si bien no fueron consistentes, se encontró diferencia significativa en las variedades INIAP y Baeza, a excepción de la variedad Agria que no presentó variación. En general, se produjo un sutil incremento de pH y SS, disminución de AT y en consecuencia el *ratio* aumentó ligeramente (**Tabla I.3**). Este último parámetro es uno de los índices más utilizados para la determinación del tiempo de cosecha por ser un indicador de palatabilidad y normalmente se observa un incremento en el *ratio* durante la maduración en muchas especies (Ribeiro de Araujo et al., 2016), sin embargo la variabilidad genética y la adaptación a las condiciones de cultivo puede provocar diferencia entre variedades de una misma especie.

Tabla I.3 Propiedades fisicoquímicas: pH, acidez titulable, sólidos solubles, *ratio* de naranjilla de las variedades INIAP Quitoense 2009, Baeza y Agria en sus grados de madurez 3 y 5. Letras distintas indican diferencias de acuerdo al test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$

Parámetro	Variedad	Grado de madurez	
		3	5
pH	INIAP	$3,28 \pm 0,06^b$	$3,37 \pm 0,02^a$
	Baeza	$3,17 \pm 0,01^c$	$3,08 \pm 0,03^d$
	Agria	$2,74 \pm 0,04^f$	$2,78 \pm 0,08^e$
Acidez titulable (g/100g)	INIAP	$2,49 \pm 0,05^d$	$2,28 \pm 0,04^e$
	Baeza	$2,59 \pm 0,02^b$	$2,55 \pm 0,02^c$
	Agria	$2,86 \pm 0,09^a$	$2,86 \pm 0,10^a$
Sólidos Solubles (°Brix)	INIAP	$8,01 \pm 0,38^b$	$8,98 \pm 0,05^a$
	Baeza	$5,96 \pm 0,09^e$	$6,05 \pm 0,07^d$
	Agria	$7,07 \pm 0,15^c$	$7,13 \pm 0,28^c$
<i>Ratio</i>	INIAP	$3,21 \pm 0,15^b$	$3,95 \pm 0,07^a$
	Baeza	$2,30 \pm 0,04^e$	$2,37 \pm 0,03^d$
	Agria	$2,47 \pm 0,09^c$	$2,49 \pm 0,12^c$

I.1.4. Firmeza

La firmeza de las variedades Agria y Baeza fueron mayores en aproximadamente 50% respecto a INIAP (**Figura I.2**). Durante el avance de la maduración (desde grados de madurez 3 a 5) la variedad Agria disminuyó 30% con valores iniciales de 10,3 N en el estado 3 a valores de 8,2 N en el estado 5. Mientras que, la variedad INIAP no mostró variación y continuó siendo la que presentaba los valores más bajos de

firmeza (4,7 N). Finalmente, la variedad Baeza también mantuvo los niveles iniciales con el avance de la madurez y terminó siendo la variedad con mayor firmeza (10,3 N). Los cambios en la firmeza se producen básicamente por cambios en la estructura de las paredes celulares por acción de enzimas degradativas como poligalacturonasa, celulasa y pectinmetilesterasa; esta medida determina la calidad del producto e influye en su manejo y empaque (Álvarez-Herrera et al., 2009; Aubert y Chanforan, 2007).

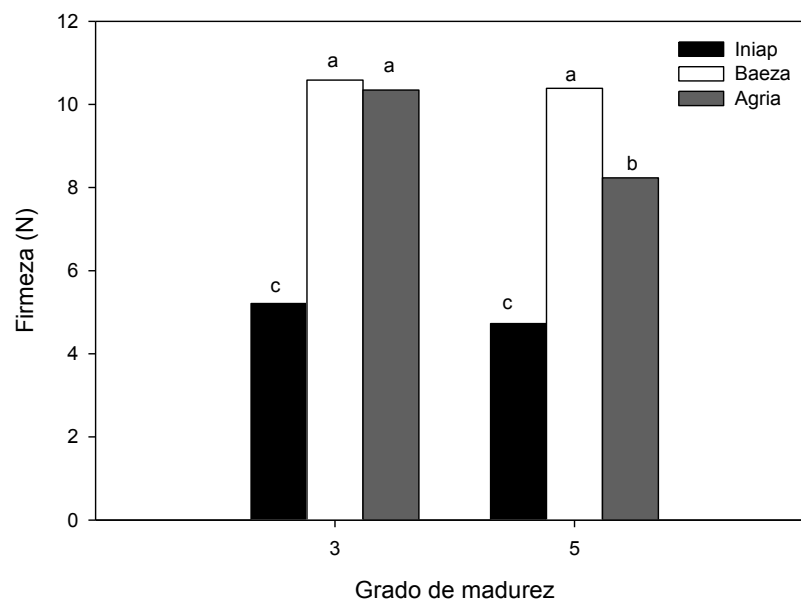


Figura 1.2 Firmeza de los frutos de naranjilla de las variedades INIAP Quitoense 2009, Baeza y Agria en sus grados de madurez 3 y 5. Letras distintas indican diferencias de acuerdo al test LSD de Fisher (LSD = 0,73) con un nivel de significancia de $P < 0,05$

I.1.5. Tasa respiratoria (TR)

La temperatura es uno de los principales factores que afectan la TR de un producto frutihortícola, a medida que aumenta la temperatura se produce un incremento en la TR que depende del tipo de producto (Holland et al., 2002). Los valores de la TR de las tres variedades de naranjilla en grados de madurez 3 y 5 son bajas y similares a los encontrados en vegetales como pepinos, tomates y melón variedad crenshaw (Watada et al., 1996). La mayor TR fue presentada por la variedad INIAP, con valores superiores en 40% a las otras dos variedades (**Figura 1.3**). Entre otros parámetros, la TR está relacionada directamente con el grado de madurez en frutos climatéricos como la naranjilla (Pérez-López et al., 2014). Arango et al., (1999) demostraron que el pico climatérico de naranjilla cv Castilla coincide con el desarrollo del 100% de tonalidad amarilla. Durante la maduración de la naranjilla se produjo un

incremento del 15 y 18 % de la TR en las variedades INIAP y Agria, respectivamente; mientras que en la variedad Baeza no se encontró diferencia entre los dos grados de madurez. Estos cambios estarían demostrando que los niveles registrados en la TR de las variedades INIAP y Agria serían o estarían cerca del pico climatérico en el grado de madurez 5. Mientras que, en la variedad Baeza, la no variación de los niveles de TR implicaría que el pico climatérico se habría concretado entre el grado 3 y 5, y que la TR ya habría llegado a valores basales en el grado de madurez 5; pudiendo interpretarse que el pico climatérico sería de menor duración y/o intensidad; o bien que aún no hubiera comenzado.

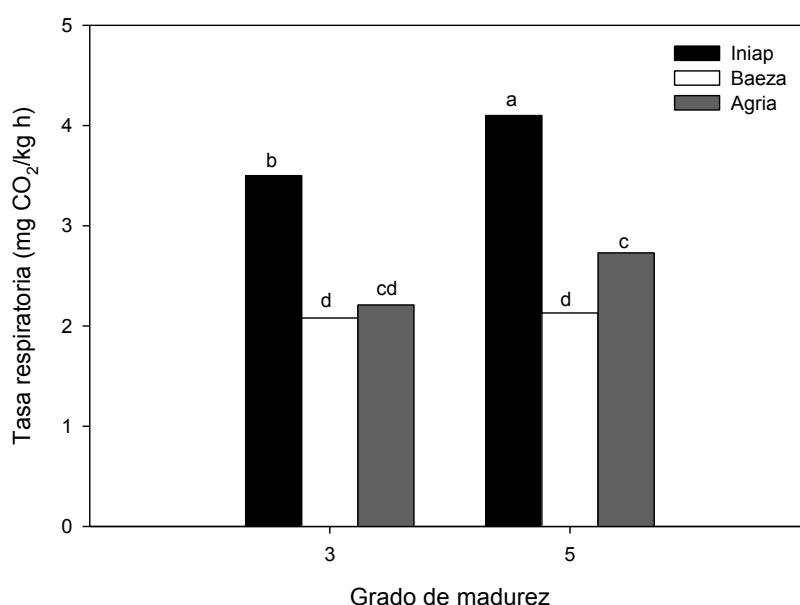


Figura I.3 Tasa respiratoria (TR) de los frutos de naranjilla de las variedades INIAP Quitoense 2009, Baeza y Agria en sus grados de madurez 3 y 5. Letras distintas indican diferencias de acuerdo al test LSD de Fisher (LSD= 0,581) con un nivel de significancia de $P < 0,05$

I.1.6. Compuestos y capacidad antioxidante

Debido a la importancia de las frutas y hortalizas como fuente de compuestos bioactivos, numerosos estudios determinan el efecto de las variedades y del grado de madurez sobre el contenido de estos compuestos y sus características funcionales (Ryan y Revilla, 2003; Ha et al., 2007). Como se observa en la **Figura I.4a**, el mayor contenido de FT lo presentó la variedad Baeza, 22 y 13% más en relación a las variedades INIAP y Agria, respectivamente en los dos grados de madurez analizados. En la variedad INIAP, el incremento de la madurez se relacionó positivamente con el contenido de FT respectivo presentando valores de 745 (grado 3) a 850 (grado 5) mg ác. gálico/kg tej. seco. Resultados similares, en

cuanto al incremento del contenido de FT durante la maduración se reportaron en mirtilo -*Vaccinium myrtillus*- (Ribeiro de Araujo et al., 2016) y durazno (Dabbou et al., 2016). En las variedades Baeza y Agria no se registraron cambios en el contenido de FT al avanzar la madurez de los frutos. Factores como el estado de crecimiento del fruto, prácticas de cultivo, condiciones ambientales precosecha influyen sobre el contenido de compuestos fenólicos en productos frutihortícolas.

La capacidad antioxidante TEAC mostró resultados similares al exponer las muestras a los radicales DPPH y ABTS (**Figura I.4b y I.4c**). La variedad Baeza también presentó mayores valores de TEAC en grado de madurez 3 respecto de las otras variedades siendo superior en 45 y 9 % en relación a INIAP y Agria, respectivamente. Los valores porcentuales difieren respecto de lo hallado para FT, por lo que podría pensarse que las variedades de naranjilla presentarían diferentes niveles de ácido ascórbico (que serían censados por las técnicas de TEAC). En trabajos previos, hemos determinado que la naranjilla variedad INIAP-Quitoense 2009 poseía ~ 470 mg/Kg de tejido fresco (Andrade-Cuvi et al., 2017). Se esperaría que aquí, las variedades Baeza y Agria presentaran un contenido mayor al de la variedad INIAP, que explicaría la mayor diferencia de TEAC. De todos modos, faltaría la determinación del mismo para una mejor comprensión. Al avanzar la madurez, la variedad Baeza mantuvo un nivel de TEAC constante, mientras que se registró un leve incremento en las variedades INIAP y Agria. La variación de los niveles TEAC durante la maduración de frutas y hortalizas es diversa, en ciruela china (Quast et al., 2013), mora, maracuyá y guayaba (Rodríguez et al., 2010) se ha reportado el incremento de FT y capacidad antioxidante, mientras que, Herrera-Hernández et al. (2011) reportan disminución de la capacidad antioxidante durante la maduración de fresas. La actividad antioxidante de un alimento está dada por la capacidad que tengan todos los compuestos antioxidantes hidrofílicos, en este caso particular, como vitaminas y polifenoles, que pueden actuar simultáneamente para capturar radicales libres, por lo que es importante determinar el contenido específico o aquellos que son predominantes en un alimento (Kevers et al., 2007; Prior et al., 1998). Como se mencionó anteriormente la naranjilla contiene altas concentraciones de vitaminas (A y C) y polifenoles por lo que puede considerarse como una buena fuente de compuestos bioactivos.

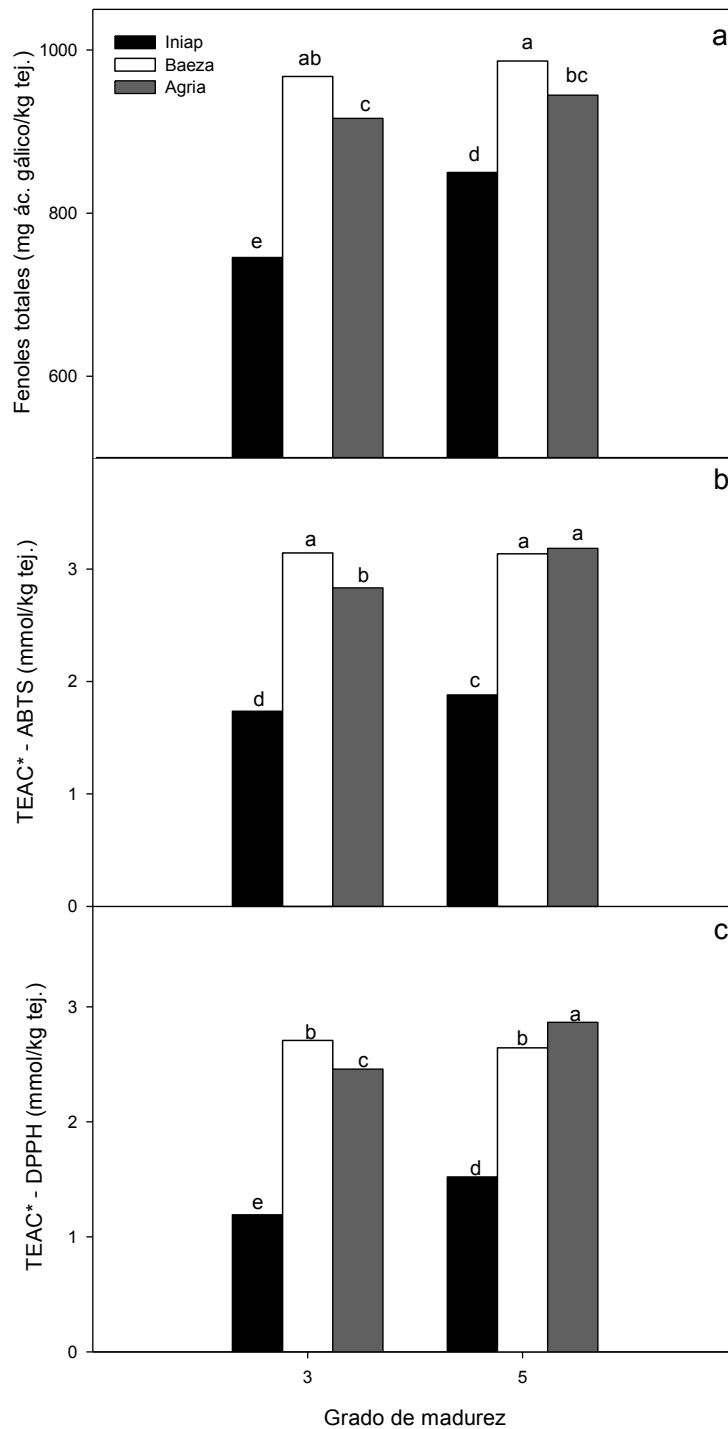


Figura I.4 Contenido de (a) fenoles totales y capacidad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC) ante el radical (b) $\text{ABTS}^{\cdot+}$ y (c) DPPH^{\cdot} de los frutos de naranjilla de las variedades INIAP Quitoense 2009, Baeza y Agria en sus grados de madurez 3 y 5. Letras distintas indican diferencias de acuerdo al test LSD de Fisher ($\text{LSD}_{\text{FT}} = 32,5$; $\text{LSD}_{\text{TEAC DPPH}} = 0,13$; $\text{LSD}_{\text{TEAC ABTS}} = 0,12$;) con un nivel de significancia de $P < 0,05$

I.2. CALIDAD DE FRUTOS DE NARANJILLA CON GRADO DE MADUREZ 5 Y ALMACENADOS A TEMPERATURA AMBIENTE POR 14 DÍAS

I.2.1. Dimensiones y rendimiento de pulpa

Los frutos de naranjilla mayoritariamente se comercializan en mercados populares y son mantenidos a temperatura ambiente entre 7 y 15 días. Suelen observarse signos de deshidratación importantes en el fruto principalmente en la zona cercana al pedúnculo (**Figura I.5**).

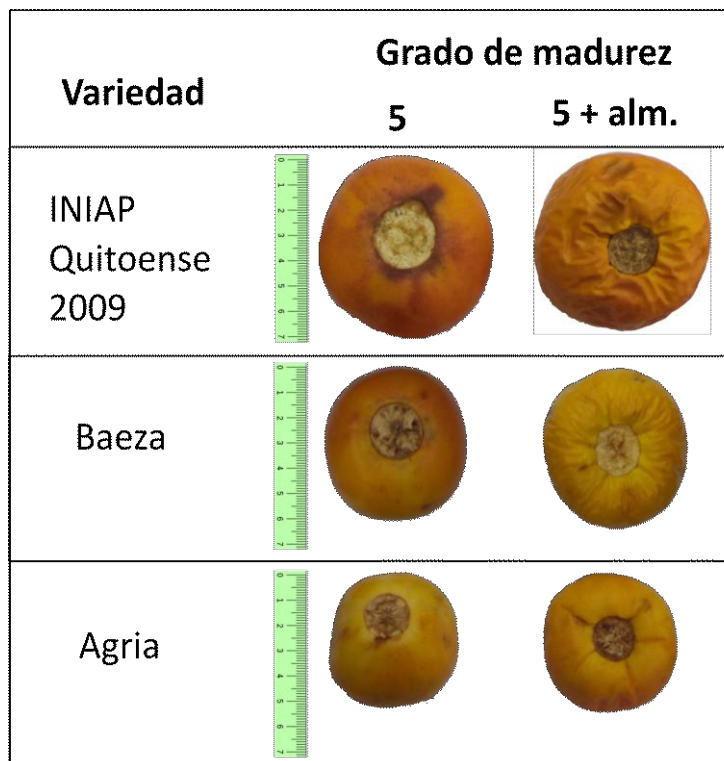


Figura I.5 Apariencia de los frutos de naranjilla de las variedades INIAP Quitoense 2009, Baeza y Agria en grado de madurez 5 y luego de 14 días de almacenamiento a temperatura ambiente (5+almac)

En general los parámetros de calidad de los frutos frescos varían durante el almacenamiento. Las variaciones encontradas en las tres variedades luego de 14 días de almacenamiento a 16 °C respecto al grado 5 de madurez, se muestran en la **Tabla I.4**. Las variedades INIAP y Agria presentaron una pérdida de peso del 6,6 y 30,6 %, respectivamente, mientras que la variedad Baeza prácticamente no varió. La pérdida de peso durante el almacenamiento está asociado a la deshidratación del fruto y su magnitud dependerá de la temperatura y humedad relativa y en algunos casos de su grado de madurez avanzado (Ribeiro de Araujo et al., 2016; Menezes et al., 2015). Reducciones similares se reportaron en tomate, pimiento rojo y pepinos (Javanmardi y Kubota, 2006; Ghaouth et al., 1991). Por otro lado, se observó

una reducción integral de los frutos. Así las variedades INIAP y Agria mostraron las mayores reducciones en el perímetro, longitud y volumen, mientras que la variedad Baeza lo hizo en menor magnitud.

Dada la deshidratación de los frutos, el rendimiento de pulpa prácticamente no se afectó en la variedad INIAP y se incrementó en las variedades Baeza y Agria en un 5 y 13 %, respectivamente.

Tabla I.4 Peso, volumen, densidad, perímetro, longitud y rendimiento de pulpa de naranjilla de las variedades INIAP Quitoense 2009, Baeza y Agria con grado de madurez 5 luego de 14 días de almacenamiento a temperatura ambiente (5+almac) y su variación porcentual respecto del fruto cosechado con grado de madurez 5. Letras distintas indican diferencias de acuerdo al test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$

Parámetro	Variedad	Madurez 5+almac	Variación (%)
Peso (g)	INIAP	157,2 ± 20,3 ^a	-6,6
	Baeza	82,3 ± 10,4 ^b	+1,0
	Agria	46,6 ± 6,4 ^c	-30,6
Volumen (cm ³)	INIAP	139,1 ± 20,1 ^a	-28,0
	Baeza	87,0 ± 11,7 ^b	-21,8
	Agria	47,2 ± 6,1 ^c	-28,9
Densidad (g/cm ³)	INIAP	1,11 ± 0,1 ^a	+15,9
	Baeza	0,95 ± 0,1 ^c	+18,8
	Agria	0,99 ± 0,1 ^b	-0,9
Perímetro (cm)	INIAP	22,4 ± 0,9 ^a	-3,5
	Baeza	18,1 ± 2,7 ^b	-0,3
	Agria	14,5 ± 0,7 ^c	-8,14
Longitud (cm)	INIAP	5,0 ± 0,6 ^a	-16,9
	Baeza	4,7 ± 0,2 ^b	-5,3
	Agria	3,7 ± 0,2 ^c	-16,0
Rendimiento de pulpa (%)	INIAP	68,3 ± 4,7 ^a	-0,54
	Baeza	68,2 ± 6,0 ^a	+5,08
	Agria	59,6 ± 5,0 ^b	+13,7

I.2.2. Color

En los parámetros de color analizados se observó un comportamiento similar en las variedades INIAP y Baeza en cuanto a la disminución de los valores de L* y b*, así como el aumento de los valores de a*. Esto se debió al incremento y saturación del color naranja más predominante en la variedad INIAP que en Baeza. En contraste, en la variedad Agria se produjo un leve incremento en los tres valores de los parámetros analizados (**Tabla I.5**) que se correlacionó con la menor variación del color que se mantuvo en amarillo-naranja. Así como lo observamos en naranjilla, según avanza la maduración, los cambios de color son marcados al inicio y de menor magnitud al alcanzar la madurez. Un hecho similar ocurre en bananas, fruto en el cual el cambio de color va de verde a amarillo cuando maduran y finalmente se potencia el amarillo (Salvador et al., 2007).

Tabla I.5 Parámetros de color: L* (luminosidad), a* (rojo-verde) y b* (azul-amarillo) de naranjilla de las variedades INIAP Quitoense 2009, Baeza y Agria con grado de madurez 5 luego de 14 días de almacenamiento a temperatura ambiente (5+almac) y su variación porcentual respecto del fruto cosechado con grado de madurez 5. Letras distintas indican diferencias de acuerdo al test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$

Parámetro	Variedad	Madurez	Variación	
		5+almac	(%)	
Color	L*	INIAP	58,7 ± 3,6 ^b	-14,1
		Baeza	59,4 ± 5,4 ^b	-14,0
		Agria	66,4 ± 1,8 ^a	+0,6
	a*	INIAP	18,96 ± 3,0 ^a	+1,1
		Baeza	18,08 ± 2,9 ^a	+11,8
		Agria	18,75 ± 2,7 ^a	+4.48
	b*	INIAP	44,0 ± 6,4 ^c	-37,9
		Baeza	57,9 ± 8,8 ^b	-18,9
		Agria	68,4 ± 2,7 ^a	+2,6

I.2.3. Propiedades fisicoquímicas

Luego de 14 días de almacenamiento a temperatura ambiente se presentó un leve incremento (~5-6%) en el valor de pH de las tres variedades (**Tabla I.6**); y la consecuente disminución de la acidez siendo ésta más marcada (~19-21%) en las variedades INIAP y Baeza y más leve (~6%) en la variedad Agria. El contenido de SS se redujo (~12-18%) en las variedades INIAP y Baeza, mientras que se incrementó en 7% en la variedad Agria, denotando que el contenido de SS se ve afectado en mayor medida por la disminución de la acidez. Estas variaciones produjeron un incremento del valor del *ratio* para las tres variedades. Resultados similares fueron encontrados en frutillas (Holcroft y Kader, 1999). En conjunto estos parámetros son utilizados como medidas de calidad organoléptica de los frutos que constituyen propiedades intrínsecas del producto (del Pilar Pinzón et al., 2007; Florkowski, et al., 2014). La marcada disminución de la acidez hace más apetecible a la naranjilla en un grado más avanzado de madurez.

Tabla I.6 Propiedades fisicoquímicas: pH, acidez titulable, sólidos solubles, *ratio* de naranjilla de las variedades INIAP Quitoense 2009, Baeza y Agria con grado de madurez 5 luego de 14 días de almacenamiento a temperatura ambiente (5+almac) y su variación porcentual respecto del fruto cosechado con grado de madurez 5. Letras distintas indican diferencias de acuerdo al test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$

Parámetro	Variedad	Madurez	Variación
		5+almac	(%)
pH	INIAP	$3,56 \pm 0,04^a$	+5,61
	Baeza	$3,25 \pm 0,03^b$	+5,23
	Agria	$2,96 \pm 0,07^c$	+6,08
Acidez Titulable (g /100g)	INIAP	$1,80 \pm 0,02^c$	-21,05
	Baeza	$2,06 \pm 0,06^b$	-19,21
	Agria	$2,69 \pm 0,08^a$	-5,94
Sólidos Solubles (°Brix)	INIAP	$7,37 \pm 0,17^b$	-17,93
	Baeza	$5,32 \pm 0,17^c$	-12,06
	Agria	$7,67 \pm 0,37^a$	+7,04
Ratio	INIAP	$4,09 \pm 0,11^a$	+3,42
	Baeza	$2,59 \pm 0,10^c$	+8,49
	Agria	$2,85 \pm 0,16^b$	+12,63

I.2.4. Firmeza

El principal cambio encontrado luego del periodo de almacenamiento fue una reducción drástica (~90%) de la firmeza de los frutos de las tres variedades (**Tabla I.7**). Resultados similares fueron reportados por Álvarez-Herrera et al. (2009), Yang et al. (2014) y Carvalho y Betancur (2015) trabajando con otras variedades de naranjilla. La firmeza forma parte de los atributos de textura que determinan la calidad de un producto (Knee, 2002); el ablandamiento extremo reduce la vida de anaquel de los productos provocando el rechazo por parte del consumidor y es uno de los síntomas asociados con la senescencia del fruto (Yang et al., 2014). Ya en la **Figura I.5** se visualizaba la pérdida de calidad poscosecha de los frutos de naranjilla. Independientemente de la variedad que se trate, es evidente que la comercialización de los mismos debe llevarse a cabo en condiciones de mayor humedad, recubiertos de film para que preserven una mejor atmósfera circundante, y en refrigeración. De lo contrario, su vida útil poscosecha se ve disminuida ampliamente. Estos estudios aportan además información para aquellos procesamiento como la preparación de jugos o pulpas, donde la mantención de la firmeza no es un requisito.

I.2.5. Tasa respiratoria

En relación a la TR se presentó una reducción del 7% en la variedad INIAP a diferencia de las variedades Baeza y Agria en las que se produjo un incremento del 70% (**Tabla I.7**). La TR se ve afectada por factores intrínsecos (del producto) como: tipo de producto, genotipo, grado de madurez y composición química; y factores extrínsecos (externos al producto) como: temperatura, concentración de oxígeno, CO₂, CO y etileno (Kader, 2007; Bartz y Brecht, 2002). Las variaciones encontradas en la TR entre los grados de madurez 3 y 5 (**Cap. I, sección 1.5**) y posterior almacenamiento durante 14 días podrían ser explicados en base a la TR de frutos climatéricos la cual es alta al inicio del desarrollo de los frutos y disminuye hasta que ocurre un aumento o pico climatérico que coincide con la maduración (Fonseca et al., 2002). Nuestros resultados estarían mostrando que la variedad INIAP habría terminado de completar el pico climatérico, mientras que las variedades Baeza y Agria continuarían incrementando la TR por estar en presencia de este pico. Por otro lado, serían necesarios mayores estudios a fin de determinar claramente este hecho, ya que la apariencia externa de los frutos denotaría que los mismos estarían ya en etapa de senescencia y deterioro, hecho que también puede causar el incremento de la TR. En este sentido, Yang et al. (2014) señalan que el proceso de respiración de la fruta es también uno de los principales factores que contribuyen a la senescencia durante la poscosecha, sugiriendo que el incremento de la TR en las variedades Baeza y Agria podría estar relacionado con la senescencia del fruto, manifestada en la apariencia general y pérdida de calidad.

Tabla I.7 Tasa respiratoria y firmeza de naranjilla de las variedades INIAP Quitoense 2009, Baeza y Agria con grado de madurez 5 luego de 14 días de almacenamiento a temperatura ambiente (5+almac) y su variación porcentual respecto del fruto cosechado con grado de madurez 5. Letras distintas indican diferencias de acuerdo al test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$

Parámetro	Variedad	Madurez	Variación
		5+almac	(%)
Firmeza (N)	INIAP	0,42 ± 0,14 ^b	-90,9
	Baeza	0,44 ± 0,11 ^b	-95,7
	Agria	0,86 ± 0,37 ^a	-89,5
Tasa Respiratoria (mg CO ₂ /kg h)	INIAP	3,84 ± 0,4 ^c	-7,3
	Baeza	7,54 ± 0,8 ^b	+71,7
	Agria	10,04 ± 1,3 ^a	+72,8

I.2.6. Compuestos y capacidad antioxidante

Las variedades Baeza y Agria siguen siendo aquellas con mayor contenido de FT y capacidad antioxidante, aún cuando el avance de su maduración se efectúa fuera de la planta, en poscosecha. A su

vez, se produjo un incremento en el contenido de FT y el valor TEAC de las tres variedades luego del periodo de almacenamiento a temperatura ambiente (**Tabla I.8**) denotando que la ruta biosintética de estos compuestos continuó activa durante este período. Este hecho se debe probablemente a que el almacenamiento no fue en refrigeración y permitió un gran avance de la maduración en esos 14 días. Es de destacar también, que el incremento del contenido de FT varió entre ~18-26% para las tres variedades, mientras que el incremento de TEAC fue entre ~23-50%. Esto nuevamente estaría indicando que otros compuestos antioxidantes estarían contribuyendo al valor de TEAC y completando la calidad nutricional de naranjilla. En el Ecuador y otros países donde la comercialización de naranjilla se da en estas condiciones, de no empleo de la refrigeración, la vida útil poscosecha se acorta en gran medida. Pero como se mencionó anteriormente, estos frutos podrían destinarse al procesamiento y empleo como pulpas o jugos en los que el valor nutricional sería hasta más elevado que aquellos frutos firmes y de grado de maduración 5.

Tabla I.8 Contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC) ante el radical ABTS^{•+} y DPPH[•] de naranjilla de las variedades INIAP Quitoense 2009, Baeza y Agria con grado de madurez 5 luego de 14 días de almacenamiento a temperatura ambiente (5+almac) y su variación porcentual respecto del fruto cosechado con grado de madurez 5. Letras distintas indican diferencias de acuerdo al test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$

Parámetro	Variedad	Madurez 5+almac	Variación (%)
Fenoles Totales (mg/kg)	INIAP	1044,1 ± 40,4 ^c	+18,6
	Baeza	1168,7 ± 43,1 ^b	+15,6
	Agria	1275,0 ± 65,3 ^a	+25,9
TEAC* DPPH (mmol/kg)	INIAP	2,99 ± 0,18 ^c	+49,16
	Baeza	3,80 ± 0,24 ^b	+30,53
	Agria	4,01 ± 0,21 ^a	+28,43
TEAC* ABTS (mmol/kg)	INIAP	3,61 ± 0,14 ^b	+47,92
	Baeza	4,16 ± 0,24 ^a	+24,51
	Agria	4,18 ± 0,23 ^a	+23,68

I.3. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES (PCA)

Para obtener una mejor visualización de cómo los parámetros fisicoquímicos y antioxidantes están correlacionados con las variedades y el grado de madurez de la naranjilla, las medidas de laboratorio fueron sometidas al PCA. El PCA permite analizar la estructura de los datos proyectándolos en el hiperespacio reducido, definido por las primeras componentes principales significativas, facilitando considerablemente el análisis y reduciendo costos (Jolliffe y Cadima, 2016). Cada componente principal

(PC) se expresa como una combinación lineal de las variables originales. Estas nuevas PC resumen en dos dimensiones la mayor parte de la variabilidad de un gran número de variables. Las PC sucesivas corresponden a porcentajes cada vez menores de la varianza total.

En la **Tabla I.9** se muestran los valores propios de cada variable que representan las varianzas de los PC con lo que se define el número de PC (valor resaltado con rojo). Se utilizó el criterio de Kaiser para seleccionar los PC con valores propios mayores a 1 (Irwing et al., 2018). En la segunda columna se muestra el porcentaje total de varianza que explica la proporción de la variabilidad en los datos de cada PC y en la tercera columna se indica la proporción acumulada de la variabilidad de la muestra explicada por PC consecutivos.

Tabla I.9 Valor propio, varianza total y acumulada de las variables utilizadas para la determinación de los componentes principales con base a la matriz de correlación aplicada a 19 características fisicoquímicas y antioxidantes de naranjilla

Número valor	Valor propio	Varianza total (%)	Acumulada (%)
1	8,00	42,11	42,11
2	4,46	23,48	65,59
3	2,36	12,42	78,02
4	1,89	9,99	88,02
5	0,64	3,36	91,39
6	0,35	1,88	93,28
7	0,30	1,58	94,86
8	0,23	1,24	96,10
9	0,19	1,02	97,13
10	0,15	0,84	97,97
11	0,14	0,75	98,72
12	0,07	0,38	99,11
13	0,05	0,29	99,40
14	0,05	0,27	99,68
15	0,02	0,11	99,80
16	0,02	0,11	99,91
17	0,01	0,06	99,98
18	0,01	0,01	99,99
19	0,01	0,01	100,0

En base a este análisis se determinaron cuatro PC que juntos explican el 88,02% de la variación total en las variables fisicoquímicas y de antioxidantes analizadas. En la **Tabla I.10** se indican las varianzas de las variables que describen cada PC; las que representan más del 50% ($|\geq 0,50|$) fueron consideradas las más importantes para cada PC (valores resaltados con rojo).

Tabla I.10 Varianzas de los cuatro componentes (factores) determinados por PCA con base a la matriz de correlación aplicada a 19 características fisicoquímicas y antioxidantes de naranjilla

VARIABLE	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4
Variedad	-0,94	0,15	0,02	0,19
Peso	0,96	-0,05	0,03	0,05
Perímetro	0,96	-0,05	0,01	-0,07
Longitud	0,83	0,24	-0,13	-0,18
Volumen	0,93	0,08	-0,13	-0,14
Densidad	0,24	-0,40	0,42	0,65
Rendimiento pulpa	0,62	-0,32	-0,01	-0,47
pH	0,78	-0,48	0,01	-0,27
Acidez titulable	-0,59	0,68	-0,14	0,28
Sólidos solubles	0,50	0,08	-0,14	0,77
Ratio	0,77	-0,40	0,03	0,38
L*	-0,01	-0,03	-0,96	0,01
a*	-0,01	-0,72	-0,44	0,18
b*	-0,14	-0,01	-0,97	0,04
Firmeza	-0,21	0,86	0,02	-0,18
TR	-0,26	-0,74	-0,09	0,22
TEAC (ABTS)	-0,64	-0,66	0,12	-0,24
TEAC (DPPH)	-0,71	-0,63	0,06	-0,16
FT	-0,58	-0,73	-0,02	-0,12

Los dos primeros PC presentan una variación en los datos de 42,11% y 23,49% para los PC1 (factor 1) y PC2 (factor 2), respectivamente. Como se puede observar en la gráfica de doble proyección (**Figura I.6**) el 42,11 % de variabilidad que explica el PC1 está cercanamente relacionado con la variedad y con características físicas de los frutos como peso, perímetro, longitud, volumen y rendimiento de pulpa, con características químicas como pH, acidez, sólidos solubles y *ratio*; y características antioxidantes como el contenido de FT y TEAC. El 23,49 % de variabilidad explicada por el PC2 está principalmente relacionada con la acidez, el parámetro a* de color, la firmeza y TR, además de características antioxidantes (FT y TEAC -ABTS y DPPH-). En tanto que el PC3 está estrechamente relacionado con los parámetros de color analizados (L y b*) y en menor medida con la densidad, en conjunto estas tres variables representan el 12,42 % de la variabilidad total. El PC4 presentó una variabilidad del 9,99 % que está relacionada con la densidad del fruto.

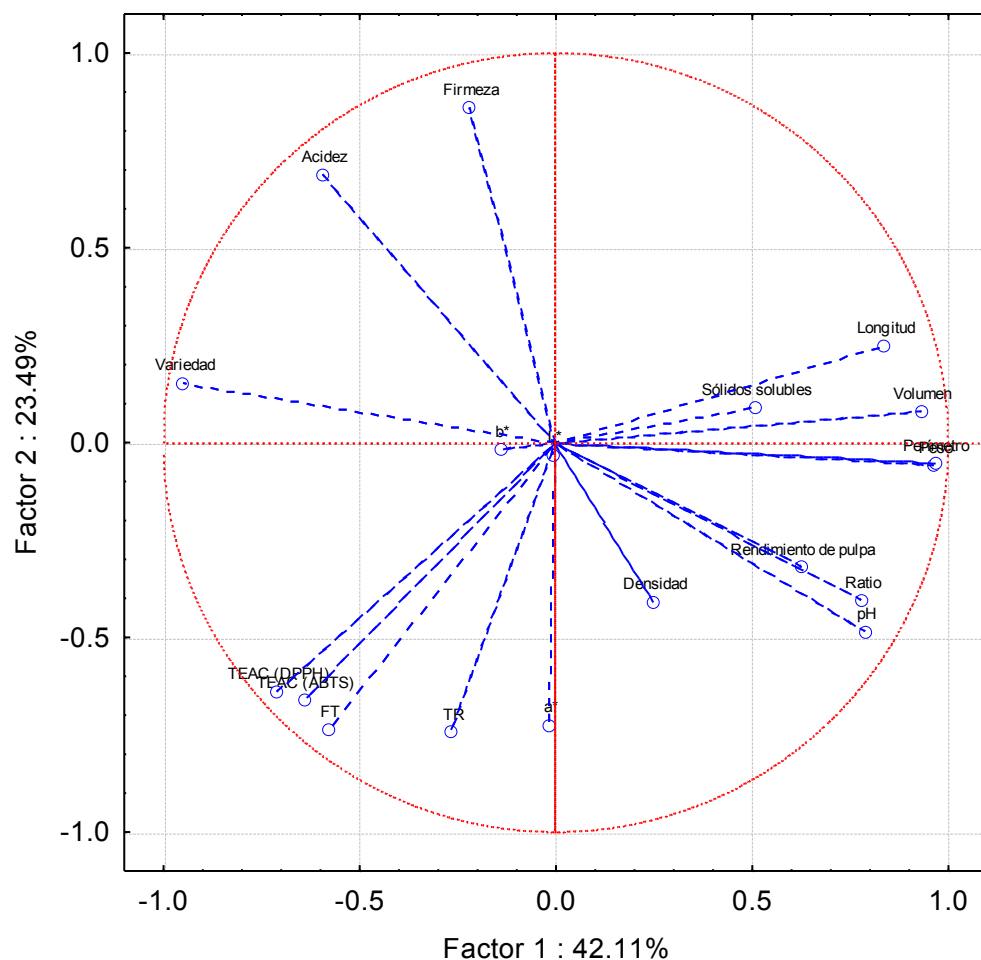


Figura I.6 Mapa de similitud del análisis de componentes principales (PCA) de los dos primeros componentes principales que muestra la correlación entre las medidas fisicoquímicas y de antioxidantes de naranjilla de las variedades INIAP Quitoense 2009, Baeza y Agria

La **Figura I.7** indica la distribución de las muestras debido a los PC1 (factor 1) y PC2 (factor 2), se revelan 3 grupos de muestras separados por el PC1 con valores positivos descritos por la variedad INIAP en grados de madurez 3, 5 y 5+almac. Los otros dos grupos con valores positivos son descritos por las variedades Baeza y Agria en grado de madurez 3 y 5; y con valores negativos los frutos con grado de madurez 5+almac.

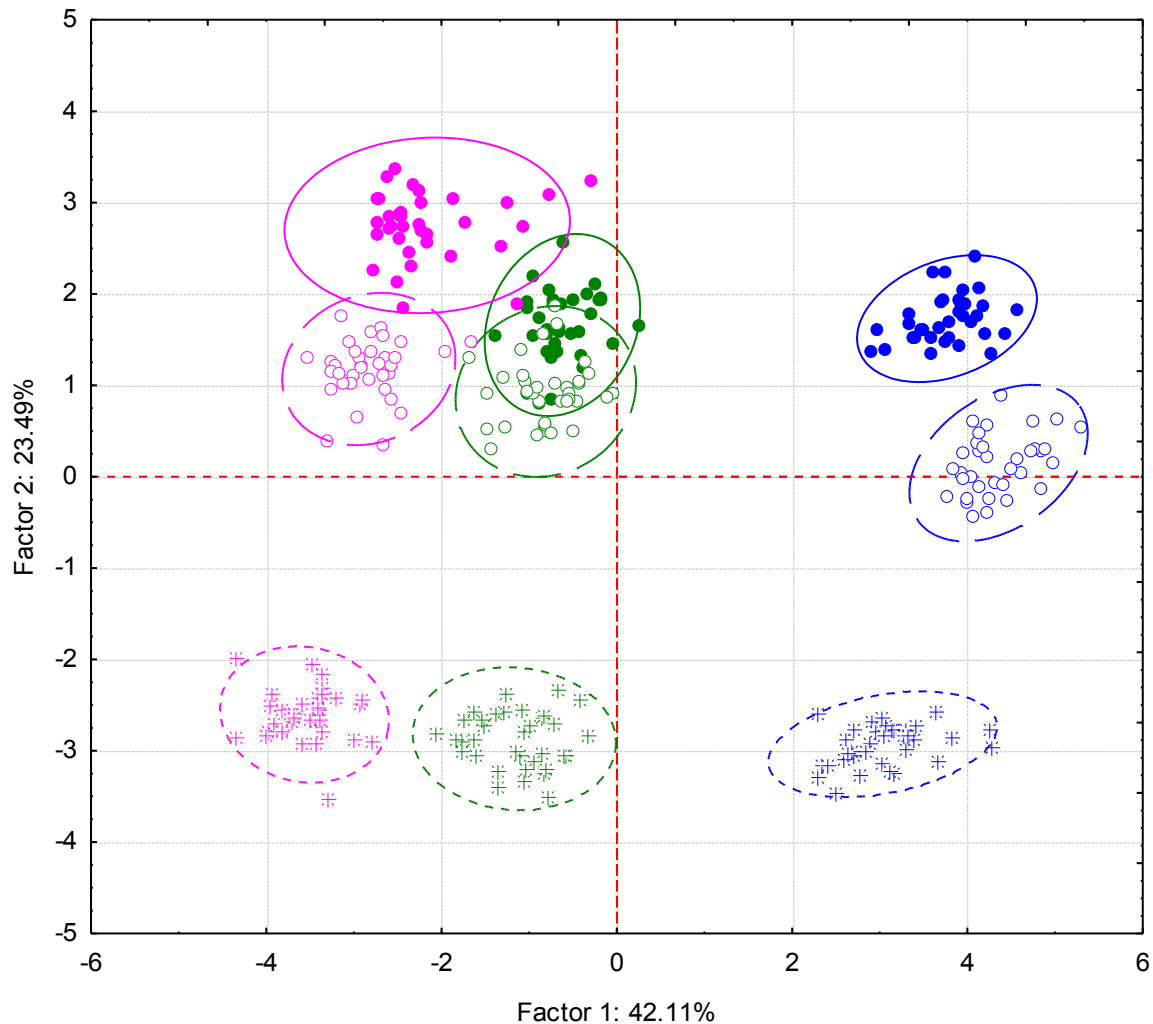


Figura I.7 Análisis de componentes principales (PCA) de los dos principales componentes que muestran correlación entre las medidas fisicoquímicas y de antioxidantes de naranjilla de las variedades INIAP Quitoense 2009 -(azul), Baeza (verde) y Agria (fucsia) con grado de madurez 3(•), 5 (o) y 5+almac (*)

Las elipses representadas en la **Figura I.7** permiten la visualización de las variedades y grados de madurez. Se demuestra que el almacenamiento de las tres variedades a temperatura ambiente durante 14 días produce características en los frutos que se diferencian claramente de los grados de madurez 3 y 5. En tanto que entre los grados 3 y 5 se observan grupos diferentes cercanos entre sí en una misma variedad y al realizar la comparación entre variedades, INIAP representa un grupo diferente en tanto que Baeza y Agria compartirían características comunes. El PCA permite confirmar las diferencias encontradas entre variedades y la influencia del tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente encontradas con el análisis de varianza. El PCA es ampliamente utilizado para determinar diferencias entre variedades, tratamientos, tiempos y condiciones de almacenamiento, entre otros (In et al., 2007;

Hagen et al., 2007; Mehinagic et al, 2003; Haffner et al., 2002). Por otro lado, una de las aplicaciones del PCA es la discriminación de variables, en el presente estudio, las variables más importantes que permiten ver las diferencias entre variedades y grados de madurez son características físicas como peso, perímetro, alto y volumen, características químicas como pH, acidez, SS y *ratio*, y características antioxidantes como capacidad antioxidante y contenido de fenoles totales. Este análisis permite optimizar los procesos experimentales para caracterización de naranjilla seleccionando las variables más útiles para este fin reduciendo el número de variables de análisis.

I. CONCLUSIONES

Como parte de la gran diversidad de frutos que se producen en la región subtropical del Ecuador, la naranjilla se destaca por su potencial comercial y por su capacidad de producción durante todo el año, por lo que es importante conocer sus características fisicoquímicas durante la maduración y almacenamiento para permitir el diseño de sistemas de transporte, empaque y líneas de procesamiento ya que se puede consumir fresca o procesada con la posibilidad del uso industrial de sus subproductos. Las diferencias entre las variedades, grados de madurez y la influencia del almacenamiento a temperatura ambiente se comprobaron mediante el análisis de componentes principales que permitió determinar que las variables con mayor influencia son características físicas como peso, perímetro, alto y volumen, características químicas como pH, acidez, SS y *ratio*, y características antioxidantes como FT y TEAC, de esta forma se pueden optimizar los procesos de caracterización de frutos como la naranjilla en futuros trabajos de investigación.

Entre los grados de madurez 3 y 5, en las tres variedades se vieron afectadas las características físicas: volumen, densidad, perímetro, longitud y rendimiento de pulpa; en cuanto a las características químicas se produjo disminución de la acidez e incremento de pH, sólidos solubles y *ratio*, por lo que se establece como momento óptimo de cosecha el grado de madurez entre 4 y 5 que corresponde a 75 a 100% de desarrollo de color amarillo, lo que se refleja en el incremento de valores de los parámetro de color analizados (L^* y b^*), favoreciendo además la aceptabilidad del consumidor debido principalmente a sus características organolépticas (sabor, dulzor, acidez, aroma y color). No obstante, debe tomarse en cuenta la distancia que recorren los frutos desde la zona de cosecha hasta los centros de acopio, normalmente entre la cosecha y la llegada a los mercados populares donde mayoritariamente se comercializan puede haber un lapso entre 3 a 4 días, durante este tiempo se mantiene la firmeza de los frutos reduciendo las pérdidas por mala manipulación y se asegura el completo desarrollo del color característico del fruto.

En cuanto a sus características antioxidantes en las tres variedades se produjo un incremento en los niveles de TEAC y el contenido de FT durante la maduración; la variedad Agria presenta las mejores características antioxidantes seguida de Baeza e INIAP.

Los frutos almacenados a temperatura ambiente durante 14 días (5+almac) se caracterizaron por un incremento en la TR, disminución del rendimiento de pulpa y de la firmeza, no obstante, presentaron los mayores valores de FT y TEAC respecto al grado de madurez 3 y 5, lo que probablemente esté relacionado a que el tejido se halla íntegro y con una mayor actividad biosintética de estos metabolitos secundarios. La deshidratación visualmente manifiesta no ha afectado en gran medida la actividad metabólica de los frutos.

La *variedad Agria* presentó la mayor acidez y que muestra su sabor ácido, aún en el grado de madurez 5. A pesar de que mostró un alto contenido de FT y TEAC respecto a INIAP y Baeza, habitualmente se limita su comercialización a nivel local dada la zona de cultivo y el bajo volumen de producción.

La *variedad INIAP* se caracteriza por su mayor tamaño y rendimiento de pulpa, y por ende mayor volumen de producción en relación a Baeza y Agria, lo que favorece su uso a nivel industrial para la obtención, por ejemplo, de pulpa de naranjilla para su comercialización a nivel nacional e internacional.

La *variedad Baeza* se caracteriza por su tamaño intermedio y buena firmeza (favorables para su manipulación y transporte) además de un elevado contenido de FT y TEAC, por lo que se recomienda su comercialización en fresco. A su vez, el buen rendimiento de pulpa la hace también adecuada para su empleo en procesamiento. Estos factores fueron claves para seleccionar esta variedad para posteriores ensayos.

Es necesario el desarrollo de tecnologías comercialmente factibles que permitan mantener y/o mejorar la calidad organoléptica, nutricional y funcional de cultivos tanto con potencial industrial como de comercialización en fresco, como la naranjilla (variedad Baeza), para incentivar su producción y consumo.

Capítulo II



Aplicación de la radiación UV-C como tratamiento poscosecha en naranjilla (*Solanum quitoense* Lam)

II. INTRODUCCIÓN

En la industria, la tecnología UV-C actualmente se usa en un extenso conjunto de aplicaciones desde la protección básica de agua potable hasta un tratamiento final para enjuagues de limpieza de partes electrónicas libres de gérmenes. La luz UV-C es una alternativa establecida y de creciente popularidad al uso de químicos tanto para la desinfección de agua, aguas residuales y aguas industriales de varias calidades como para superficies de envases y alimentos. La luz se aplica con una determinada intensidad (W/cm^2), y que al incrementar el tiempo (s) de exposición se va incrementando la dosis (J/cm^2) efectiva. En el sector frutihortícola son necesarias prácticas de conservación de productos frescos enteros y frescos mínimamente procesados que mantengan sus atributos de calidad durante la manipulación, distribución y comercialización. Además, como el uso de muchos tratamientos poscosecha con sustancias químicas causan problemas ecológicos o son potencialmente perjudiciales para el ser humano, en muchos países se ha restringido su uso. Una de esas tecnologías emergentes es la radiación UV-C que se caracteriza por su fácil aplicación, bajo costo y por no dejar residuos en el producto. Existen numerosos estudios realizados con el uso de la radiación UV-C como una alternativa poscosecha para mantener la calidad de vegetales, cuya dosis no supera los $20\text{-}25 \text{ kJ}/\text{m}^2$. Las dosis a las que son expuestos los diferentes productos frutihortícolas son clasificadas como bajas, moderadas y altas, y aquellas que superan los $20\text{-}25 \text{ kJ}/\text{m}^2$ reciben la denominación de hiperdosis (Maharaj et al., 2010; Artés-Hernández et al., 2010). Las dosis varían según el tipo de producto y los resultados son disímiles ya que dependen de las dosis y formas de aplicación.

Se ha empleado en poscosecha como tecnología para el control de microorganismos. Así Lamikanra et al. (2005) demostraron que una intensidad de $1,18 \text{ mW}/\text{s}\cdot\text{cm}^2$ durante 4 min ($2,83 \text{ kJ}/\text{m}^2$) aplicada tanto durante el corte o posterior a él fue efectiva para reducir poblaciones de levaduras, mohos y *Pseudomonas* en melón incrementando la vida útil del producto mínimamente procesado. Asimismo, la luz UV-C puede aplicarse en vegetales enteros hallándose resultados muy alentadores. Trabajos en frutilla (Marquenie et al., 2003) y en pimiento (Artés et al., 2006) demuestran que dosis de $0,5$ a $22,7 \text{ kJ}/\text{m}^2$ permiten controlar el crecimiento de *Botrytis cinerea*. Sin embargo, no siempre los resultados son alentadores. Butot et al. (2018) evaluaron el efecto de varias dosis menores a $1 \text{ kJ}/\text{m}^2$ y concluyeron que el uso de la radiación UV-C como parte del procesamiento de bayas frescas y congeladas no inactiva un número significativo de microorganismos patógenos. Gündüz et al. (2015) demostraron que altas dosis de radiación UV-C aumentan la resistencia de *Penicillium digitatum* de forma que el decaimiento de los frutos tratados es mayor a los frutos sin tratamiento. Igualmente, Liu et al. (1993) demostraron que dosis altas de radiación UV-C en tomate provocan el desarrollo de imperfecciones en la piel y aumenta

la susceptibilidad de los frutos a la podredumbre. Por ello, deben seleccionarse la dosis e intensidad de aplicación de la radiación UV-C adecuadas para cada producto, ya que su flora nativa podrá o no ser controlada total o parcialmente por la radiación UV-C.

No sólo el efecto germicida es de interés, ya que se han observado beneficios en la poscosecha debido a un efecto hormético que ha generado retrasos en la aparición de síntomas de daño por frío, menor pardeamiento enzimático, menor pérdida de peso y mayor firmeza durante el almacenamiento, entre otros cambios. Estos resultados permiten un incremento en la vida útil de diferentes productos frutihortícolas. Se han realizado numerosas investigaciones que han comprobado, por ejemplo, que la aplicación de una dosis de $6,56 \text{ kJ/m}^2$ en uvas induce la expresión de genes relacionados con la biosíntesis de compuestos fenólicos con la consecuente acumulación de estos compuestos durante la poscosecha (Porto-Pinto et al., 2016). En tomates inmaduros se encontró un incremento en el contenido de licopeno, carotenoides totales, compuestos fenólicos y actividad antioxidante (Pataro et al., 2015). En frutos tropicales como guaba y banana la radiación UV-C produjo incremento en el contenido de fenoles totales y de la capacidad antioxidante, sin embargo, se observó reducción del contenido de ácido ascórbico (Allothman et al., 2009). Por otro lado, Rodoni et al. (2015), analizaron distintas dosis (1,5; 3; 5; 6; 10 and 20 kJ/m^2) y zonas de aplicación (cara interna o externa) en pimiento fresco cortado, y hallaron que la aplicación de 10 kJ/m^2 tanto en la cara interna como externa del pimiento fresco cortado no sólo induce la acumulación de compuestos fenólicos sino que también retrasa la solubilización de pectina y con ello el ablandamiento. A su vez, detallan que las dosis de 1,5 y 3 kJ/m^2 no reducen la incidencia de microorganismos, mientras que las demás dosis ensayadas son menos efectivas que la seleccionada.

Así también, en banana tratada con dosis de 0,01, 0,02, 0,03 y $0,04 \text{ kJ/m}^2$ (Ding et al., 2015) se encontró que la dosis más baja ($0,01 \text{ kJ/m}^2$) redujo la pérdida de agua y retrasó la conversión de almidón en azúcares, mantuvo la firmeza y mejoró el contenido de compuestos fenólicos durante el almacenamiento, a diferencia de las otras dosis que no mostraron diferencia significativa con las muestras control (sin tratamiento). La exposición de melón mínimamente procesado a dosis bajas ($1,6 \text{ kJ/m}^2$) aumenta la vida útil del producto a un tiempo mayor a 11 días en tanto que dosis moderadas-altas ($7,2 \text{ kJ/m}^2$) se reduce la vida útil a 8 días (Artés-Hernández et al., 2010). En virtud de ello, se evidencia que las condiciones de tratamiento deben ser ajustadas para cada producto en particular.

Asimismo, dependiendo del empleo que se le dará al producto frutihortícola, es el tipo de calidad que se quiere mantener o incluso mejorar. Khademi et al. (2013) trataron frutos de caqui con 1,5 y 3 kJ/m^2 ; ambas dosis redujeron el decaimiento y no afectaron la producción de etileno y el color del fruto, sin embargo, el tratamiento no permite mantener la firmeza durante el almacenamiento. No obstante, los

frutos tratados con 1,5 kJ/m² presentaron mejores características que los tratados con 3 kJ/m². Promyou y Sipapvanich (2012) estudiaron el efecto de diferentes dosis de luz UV-C (2,2, 4,4 y 6,6 kJ/m²) en pimiento amarillo. Las dos primeras dosis no produjeron pérdida significativa de peso y firmeza y no afectaron al color y contenido de ácido ascórbico y compuestos fenólicos, en tanto que la dosis más alta mejoró el contenido de carotenoides, flavonoides y la capacidad antioxidante. Se ha comprobado que dosis altas inducen fotodegradación de antocianinas específicas, en tanto que otras son fotodegradadas por dosis bajas. Wu et al. (2017) explican que la estabilidad de las antocianinas totales y la variación de compuestos individuales depende de la dosis de radiación UV-C aplicada.

Según explica Luckey (1980), a diferencia de las dosis horméticas (dosis bajas), las dosis altas y las hiperdosis de estrés, como la radiación UV-C, disminuyen el rendimiento fisiológico y pueden conducir a la muerte del organismo. El uso apropiado de la radiación UV-C puede modificar el contenido de fitoquímicos en frutas y vegetales como respuesta al estrés inducido por el tratamiento. Wang et al. (2009) indican que las respuestas más fuertes ocurren instantáneamente después de aplicado el tratamiento y los efectos disminuyen en el tiempo, pero si la dosis es la adecuada será suficiente para desencadenar una serie de procesos metabólicos que permitirán extender la vida útil poscosecha del producto.

Por ello la importancia de determinar las condiciones adecuadas de tratamiento para cada producto. Esto ha permitido que la investigación sobre el uso de radiación UV-C se haya extendido a nivel mundial, se han realizado estudios en frutos tropicales y subtropicales, así como en aquellos denominados exóticos, como el fruto empleado en el presente trabajo de Tesis. Se ha encontrado que la aplicación de radiación UV-C mantiene y/o mejora sus características nutricionales (contenido de compuestos bioactivos) y alarga la vida útil del producto pudiendo ser transportados a mercados más lejanos. En un trabajo previo hemos reportado que la aplicación de una dosis de 23 kJ/m² en carambola mínimamente procesada produjo la reducción del crecimiento de mohos y contribuyó a la acumulación de fenoles totales y flavonoides (Andrade-Cuvi et al., 2010). Por otro lado, se ha estudiado la eficacia del tratamiento UV-C en frutos nativos de Ecuador como uvilla (*Physalis peruviana*) y mortiño (*Vaccinium floribundum*) logrando un incremento de la vida útil de los frutos entre 7 y 14 días respecto a los frutos no tratados (Andrade Cuvi et al., 2017). En mora de Castilla la radiación UV-C produjo cambios en el contenido de compuestos antioxidantes (Romero-Ayala et al., 2014), además de controlar el crecimiento de microorganismos (Salvador-Vallejo et al., 2014) al igual que en naranjilla mínimamente procesada (Andrade-Cuvi et al., 2013) manteniendo la calidad del producto por más días.

Finalmente, la radiación UV-C es una tecnología no química con potencial para mejorar la acumulación de compuestos benéficos para la salud sin producir cambios significativos sobre las características físicas del producto durante el almacenamiento. Así, es una tecnología poscosecha que puede ser útil para complementar el uso de bajas temperaturas y extender la vida útil de productos frutihortícolas enteros y frescos cortados. En el presente capítulo se evaluó la aplicación de la radiación UV-C sobre la calidad poscosecha de naranjilla cv Baeza refrigerada y su efecto sobre la capacidad antioxidante del fruto.

II. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

II.1. Selección de tiempo de almacenamiento y dosis efectiva

Es importante optimizar la dosis de radiación UV-C a aplicarse en un producto frutihortícola, ya que se encuentra diferencia en las respuestas de los frutos al tratamiento según la variedad o cultivar, incluso se han observado diferencias según la etapa de maduración y la temporada de cosecha (D'hallewin et al., 2000). Las dosis de radiación UV-C (4,5; 9,5 y 12,5 kJ/m²) aplicadas en naranjilla se basaron en trabajos de investigación previos realizados con frutos exóticos ecuatorianos (Moreno et al., 2017; Andrade-Cuvi et al., 2017). La dosis efectiva se seleccionó en base a la pérdida de peso y el avance del deterioro de naranjilla durante 28 días de almacenamiento refrigerado (**Figura II.1**).

Según se observa en la **Figura II.1a**, al final del almacenamiento los frutos control presentaron una pérdida de peso del 10,2 %, mientras que en los frutos tratados estos valores fueron de 9,7%, 10,2% y 11,8% para los tratamientos con 4,5; 9,5 y 12,5 kJ/m², respectivamente. Cambios más significativos fueron hallados cuando se observó el deterioro de los frutos. Así, todos los tratamientos con UV-C lograron retrasar el índice de deterioro (ID) respecto de los frutos controles (**Figura II.1b**) ya a los 7 días. A lo largo del almacenamiento se manifestaron diferencias entre las dosis empleadas, registrándose mejores valores de ID para las dosis 9,5 y 12,5 kJ/m² aunque a tiempos largos de almacenamiento la dosis de 12,5 kJ/m² terminó siendo la menos efectiva de todas las dosis empleadas. Al final del almacenamiento refrigerado (28 d) se pudo observar que los frutos control y tratados con dosis de 12,5 kJ/m² alcanzaron un valor de ID = 3,5 y 3,0, respectivamente, valores que corresponden a un daño moderado a severo; mientras que la aplicación de las dosis de radiación UV-C de 4,5 y 9,5 kJ/m² redujeron el avance del deterioro del fruto alcanzando valores de ID = 2,4 (daño moderado) y 1,98 (daño ligero), respectivamente. La apariencia de los frutos se puede observar en la **Figura II.2**. En el día 28, todos los frutos habían perdido totalmente su calidad para una comercialización directa o

procesamiento, mientras que, en el día 21 los frutos tratados aún mantenían su calidad comercial y características organolépticas.

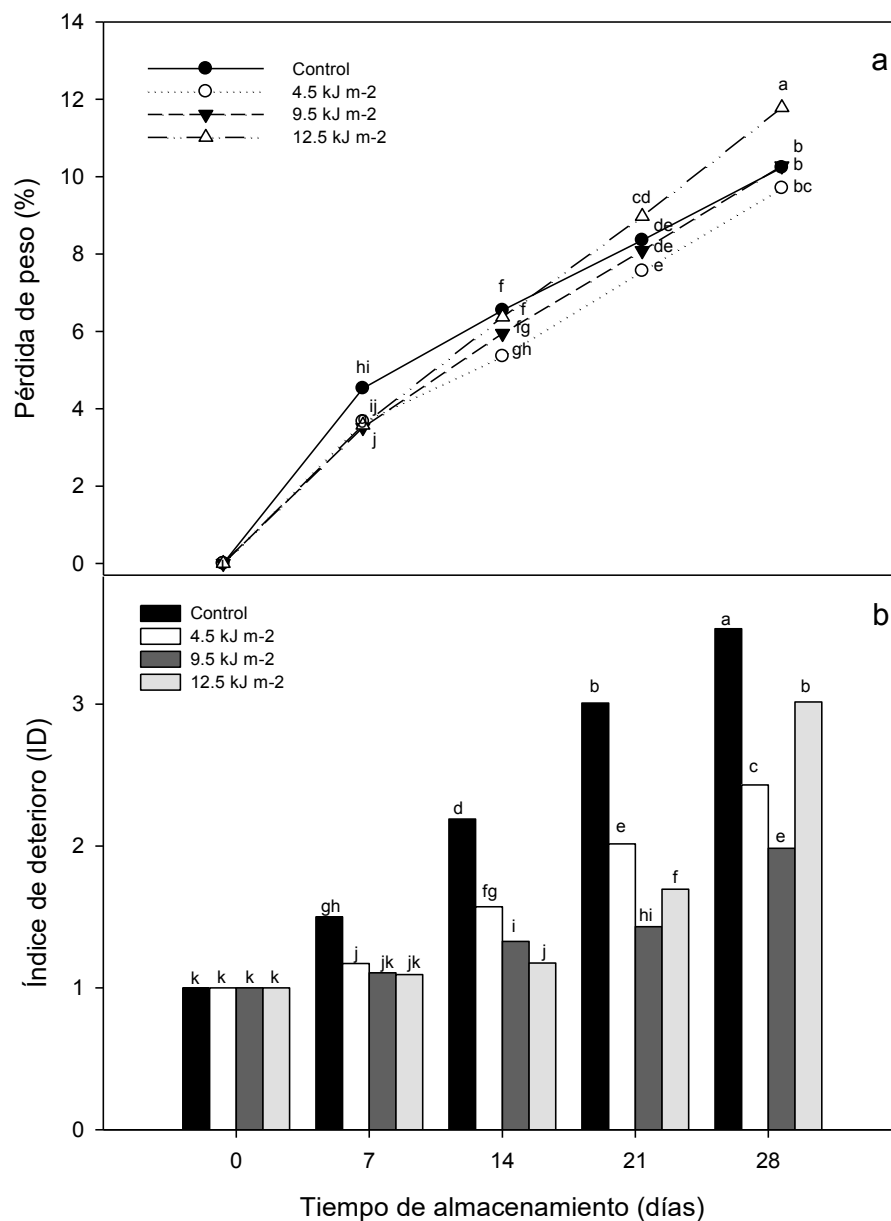


Figura II.1 (a) Pérdida de peso e (b) índice de deterioro en frutos de naranjilla control y tratados con radiación UV-C (4,5, 9,5 y 12,5 kJ/m²) almacenados a 4°C durante 28 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$

Numerosos trabajos de investigación evalúan la aplicación de diversas dosis de radiación UV-C, las cuales habitualmente no superan los 20 kJ/m^2 (Civello et al., 2006). Por ejemplo, se recomienda la exposición de banana variedad Beragan a una dosis de $0,01 \text{ kJ/m}^2$ (Ding et al., 2015), frutillas a dosis de $2,15$ y $4,30 \text{ kJ/m}^2$ (Erkan et al., 2008) y en tomate se ha reportado como dosis óptimas 4 u 8 kJ/m^2 .

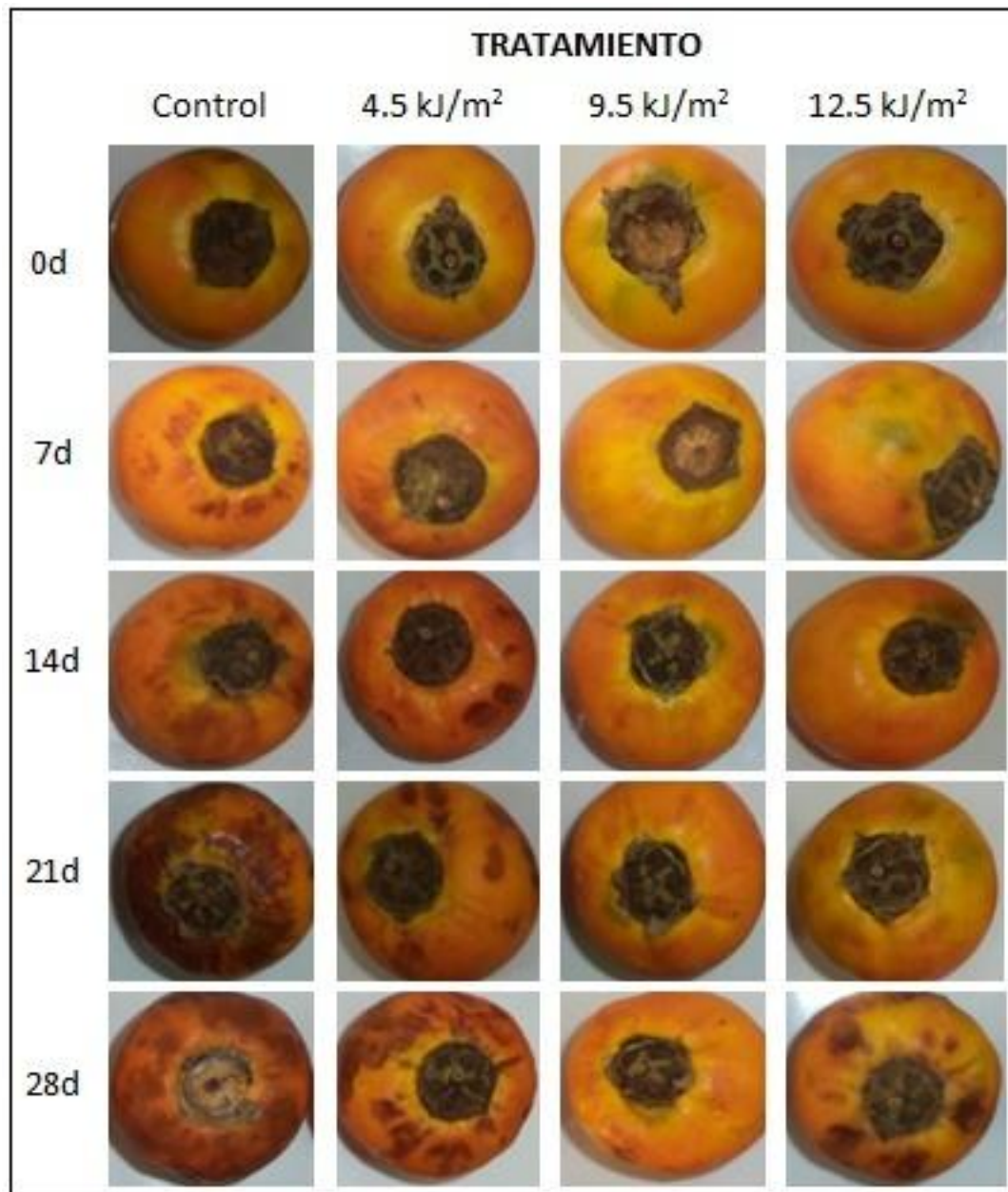


Figura II.2 Apariencia de frutos de naranjilla control y tratados con radiación UV-C ($4,5$, $9,5$ y $12,5 \text{ kJ/m}^2$) almacenados a 4°C durante 28 días

Se resalta que el uso adecuado de la luz UV-C puede ser utilizado para la desinfección superficial en sandía con dosis de 4,1 kJ/m² (Fonseca y Rushing, 2006) y 1,5 kJ/m² (Artés-Hernández et al., 2010). La variabilidad de dosis determinadas como efectivas depende de diversos factores, además del tipo de fruto, variedad, grado de madurez, entre otros, es importante tomar en cuenta la heterogeneidad del material celular, el grosor de las capas celulares y a nivel subcelular la distribución de las organelas y pigmentos intracelulares, y la configuración y la estructura de las moléculas en el momento de la irradiación (Civello et al., 2006). Así, en el caso particular de naranjilla, hallamos aquí que el tratamiento más efectivo en retrasar el deterioro fue 9,5 kJ/m² en relación a 4,5 y 12,5 kJ/m² para la variedad Baeza. Sin embargo, en trabajos previos hemos empleado tratamientos de radiación UV-C de 8 y 12,5 kJ/m² sobre la variedad INIAP Quitoense-2009 hallando que la dosis más efectiva resultó ser 12,5 kJ/m² (Andrade-Cuvi et al., 2013, 2017). Cabe recordar que la variedad INIAP Quitoense-2009 presentaba un tamaño significativamente mayor a la variedad Baeza (**Cap. I, Sección 1.1**), con la consecuente diferencia en el espesor de mesocarpio y arreglo del endocarpio. Ello confirma que las condiciones de tratamiento deben ser establecidas para cada variedad. En función de estos resultados se seleccionó, de aquí en adelante, que para la variedad de naranjilla Baeza el tratamiento con luz UV-C debía efectuarse con una dosis de 9,5 kJ/m² y así evaluar atributos de calidad fisicoquímica, microbiológica y contenido de compuestos antioxidantes.

II.2. Efecto del tratamiento UV-C seleccionado sobre la calidad poscosecha de naranjilla

Los ensayos experimentales se realizaron con naranjilla (*Solanum quitoense*) variedad Baeza cosechada en los meses de junio y julio de 2016 con un grado de madurez entre 4 y 5 correspondiente al 75-100% de desarrollo de color amarillo en la superficie del fruto.

II.2.1. Pérdida de peso e índice de deterioro

Durante el periodo poscosecha se producen reacciones bioquímicas en los productos frutihortícolas, por ende, existen cambios de calidad (Javanmardi y Kubota, 2006) como la pérdida de peso o el deterioro de producto que conducen a la disminución de la calidad organoléptica y comercial. Existe una relación directa entre la pérdida de peso y la calidad del producto, según Valero y Serrano (2010), se considera un producto de baja calidad aquel que presenta principalmente pérdida de turgencia, viéndose afectados también la textura y el color. La turgencia es una condición necesaria para la apariencia fresca de la fruta, ya que los consumidores no aceptan una fruta blanda, opaca y/o arrugada.

Como se observa en la figura **Figura II.3a** los frutos tratados presentaron mejor apariencia que los controles luego de 21 días de almacenamiento refrigerado. La pérdida de peso se incrementó tanto en

frutos control como en tratados (**Figura II.3b**). La aplicación de radiación UV-C ($9,5 \text{ kJ/m}^2$) redujo significativamente la pérdida de peso de los frutos hasta el día 14; mientras que a los 21 días se alcanzaron valores de 7,5 y 6,9 %, para los frutos control y tratados, respectivamente, sin encontrarse diferencia significativa entre las muestras. Aeked (2002) explica que la tasa de pérdida de agua durante la poscosecha depende del déficit de presión de vapor externa y también influye tanto la relación superficie/volumen del producto como el grosor del peridermo ya que proporcionará resistencia al movimiento del vapor de agua. La disminución de peso de los productos frutihortícolas en la poscosecha está asociada principalmente con la pérdida de agua producto de procesos de respiración y transpiración (Rahman et al., 2013), producción de etileno y eliminación de compuestos volátiles (Constantini et al., 2006).

Se analizó avance del daño por frío o deterioro de la fruta durante el almacenamiento, definiéndose el índice de deterioro (ID) que evaluaba aspectos como la pérdida de turgencia y firmeza al tacto, marchitez y daños físicos. Los síntomas de daño por frío se presentaron a partir del día 7 tanto en frutos control como en tratados con valores de ID 1,7 y 1,3, respectivamente, correspondientes a un daño ligero incipiente. El avance del deterioro de los frutos se caracterizó por la aparición de mohos en el cáliz, punteado de color negro y depresiones blandas en la superficie. Al final del almacenamiento (día 21) el ID de los frutos control fue de 3,2 (daño moderado-grave), mientras que los frutos tratados presentaron un ID = 2,4 (daño ligero-moderado) (**Figura II.3c**). Así, puede visualizarse que el ID alcanzado por los frutos tratados a los 21 días es aún mejor que el alcanzado por los frutos control a los 14 días. De este modo, se concluye que el tratamiento con radiación UV-C ($9,5 \text{ kJ/m}^2$) permitió mantener la calidad organoléptica y comercial de la naranjilla durante 21 días de almacenamiento en refrigeración, alargando la vida útil del fruto por 7 días respecto a los frutos control al retrasar los síntomas de daño por frío.

Resultados similares a los obtenidos en este estudio en cuanto al retraso en el deterioro del fruto y la reducción de la pérdida de peso han sido reportados en pimiento rojo (Andrade-Cuvi et al., 2011), arándanos (Nguyen et al., 2014) y banana (Ding et al., 2015) tratados con diferentes dosis de radiación UV-C.

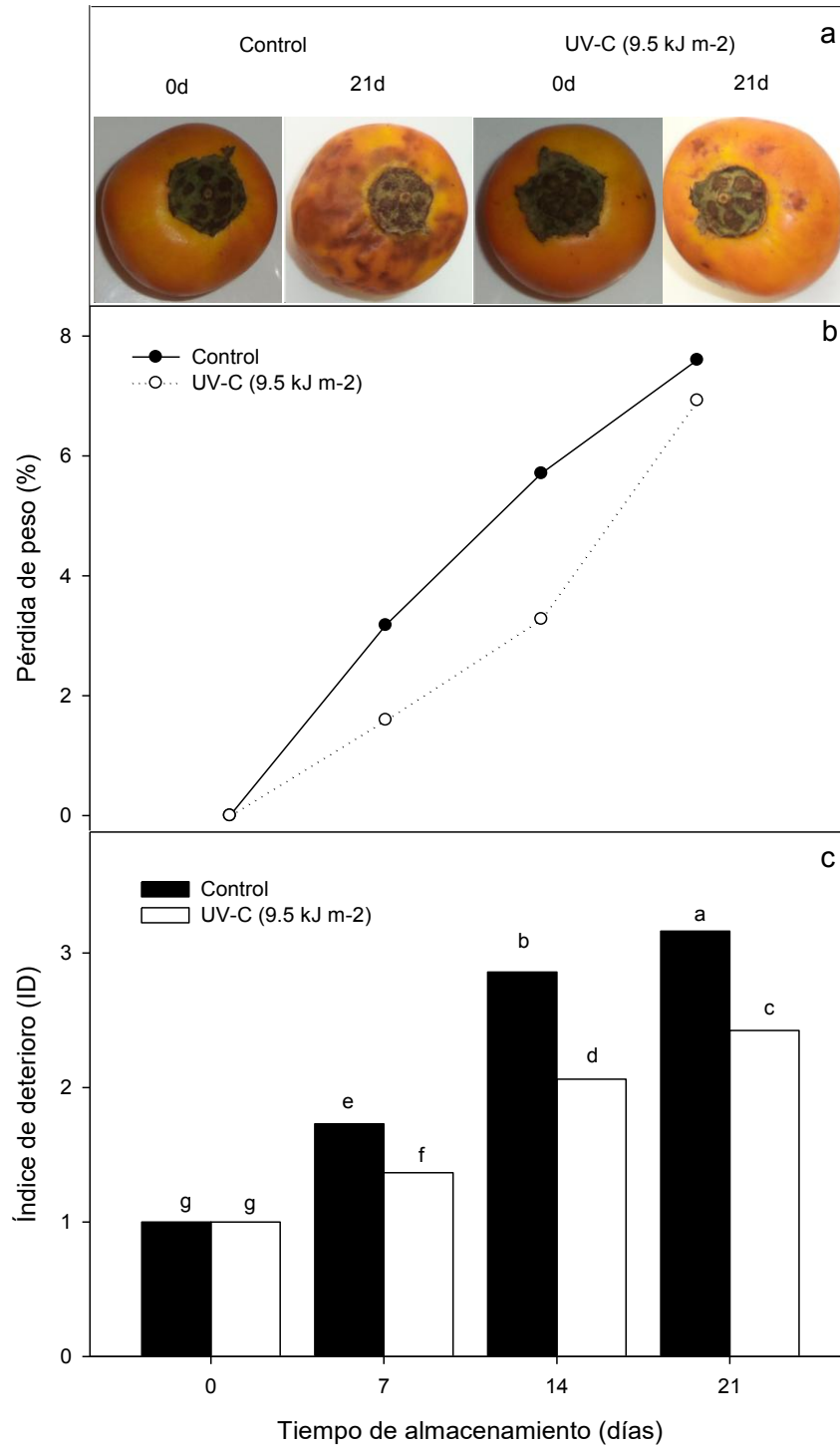


Figura II.3 (a) Apariencia, (b) pérdida de peso e (c) índice de deterioro en frutos de naranjilla control y tratados con radiación UV-C (9,5 kJ/m²) almacenados a 4°C durante 21 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$

II.2.2. Producción de etileno, tasa de respiración y firmeza

El etileno es una fitohormona que regula procesos metabólicos involucrados en el crecimiento, desarrollo y respuesta a cambios ambientales de frutas y vegetales (Mendoza et al., 2016). El tratamiento UV-C de $9,5 \text{ kJ/m}^2$ produjo un incremento significativo en la producción de etileno durante el almacenamiento refrigerado de naranjilla (**Figura II.4a**). Se determinó un valor inicial (día 0) de 2,2 y 2,5 ppm/kg·h para frutos control y tratados, respectivamente. La mayor producción de etileno se presentó en el día 14 para las dos muestras con valores de 4 ppm/kg·h. En el día 21 los frutos tratados y controles presentaron valores similares al día 0. La producción de etileno en respuesta a la exposición de productos frutihortícolas a la radiación UV-C es variada y depende del tipo producto y de las condiciones del tratamiento y almacenamiento (Civello et al., 2006). Los resultados obtenidos confirman que la radiación UV-C estimula la producción de etileno tal como se ha reportado en diferentes matrices como frutilla (Li et al., 2014), tomate (Severo et al., 2015) y lima persa (Penta et al., 2017).

En frutos climatéricos como la naranjilla, la magnitud de la tasa de respiración (TR) pareciera no depender de la concentración de etileno. Según explica Watkins (2002), la similitud de comportamiento entre la producción de etileno y la TR en frutos climatéricos dependerá del tipo de fruto. Los valores de la TR de los frutos control y tratados con radiación UV-C de $9,5 \text{ kJ/m}^2$ se registraron en un rango de 7,8 a 67,8 mg CO₂/kg·h (**Figura II.4b**).

Los frutos control mostraron un incremento gradual de la TR a lo largo del almacenamiento alcanzando en el día 21 valores 33 % superiores a los frutos tratados. Mientras que, para los frutos tratados se observó un incremento del 50 % en la TR inmediatamente después del tratamiento, un incremento del 80 % en el día 7 a partir del cual disminuyó hasta el final del almacenamiento (día 21) terminando en un valor menor al de los controles. A diferencia de los resultados obtenidos en esta investigación, la exposición de lima persa y pimienta fresca a dosis de 7,2 y 15 kJ/m² de radiación UV-C, respectivamente, no afectó la TR en tanto que la aplicación de 4 kJ/m² de luz UV-C en frutillas incrementó la TR durante el almacenamiento refrigerado (Ortiz-Araque et al., 2018).

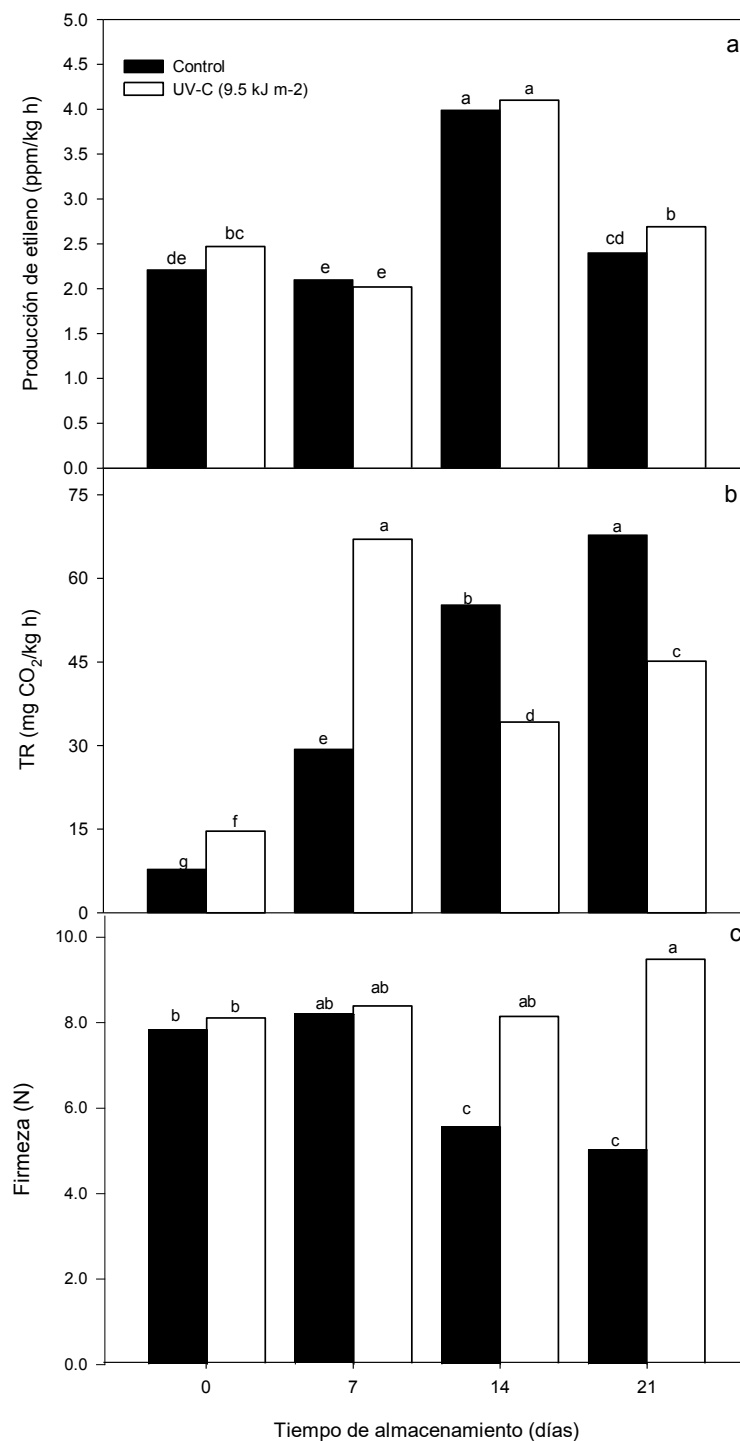


Figura II.4 (a) Producción de etileno, (b) tasa de respiración y (c) firmeza de frutos de naranjilla control y tratados con radiación UV-C (9,5 kJ/m²) almacenados a 4°C durante 21 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$

Según explican Civello et al. (2006), se encuentran diferentes patrones de respuesta de la TR a la dosis de radiación UV-C aplicada en productos frutihortícolas; durante el almacenamiento de frutos climatéricos se puede presentar un aumento transitorio en la TR a tiempos cortos luego del tratamiento y posteriormente la TR se ve reducida, tal como el comportamiento observado en el presente estudio. A su vez, la mayor TR observada en los frutos control respecto a los frutos tratados a partir del día 14 puede atribuirse a la presencia de mohos en el cáliz de estos frutos, como sugieren Collings et al. (2018). Los cambios de textura de los frutos se dan normalmente durante su crecimiento y desarrollo en la planta y continúan durante el almacenamiento poscosecha. Estos cambios se producen por reacciones químicas de los componentes de las paredes celulares (pectinas, celulosas y hemicelulosas) provocando la pérdida de la firmeza de producto (Valero y Serrano, 2010). Una vez aplicada la radiación UV-C en la naranjilla no se produjeron cambios inmediatos en la firmeza de la fruta respecto a los controles (**Figura II.4c**). La firmeza de los frutos control se mantuvo constante hasta el día 7 y se redujo en un 35% para el día 14, manteniéndose en estos valores hasta el día 21 afectando la apariencia del producto. En tanto que la dosis de radiación UV-C aplicada ($9,5 \text{ kJ/m}^2$) permitió mantener la firmeza de los frutos de naranjilla durante el periodo de almacenamiento mostrando, en el día 21, valores similares al inicio del experimento. Se ha comprobado que la radiación UV-C reduce la pérdida de firmeza durante el almacenamiento refrigerado en frutilla, pimiento y tomate debido a la incidencia de esta tecnología sobre la expresión de los genes involucrados en la degradación de la pared celular (Ortiz-Araque et al., 2018; Li et al., 2014; Pombo et al., 2011; Vicente et al., 2005; Pan et al., 2004; Barka, 2001). Asimismo, se ha asociado la exposición de frutos a la radiación UV-C con la acumulación de poliaminas (metabolitos involucrados en la respuesta al estrés biótico y abiótico) durante el periodo poscosecha, cuyo metabolismo estaría relacionado con la menor pérdida de firmeza del fruto dado su carácter catiónico y por el cual puede formar complejos con estructuras aniónicas tales como las pectinas de la pared celular (Liu et al., 2015; Tiecher et al., 2013; González-Aguilar et al., 2004).

II.2.3. pH, acidez total titulable, sólidos solubles y *ratio*

Se evaluó el efecto de la radiación UV-C ($9,5 \text{ kJ/m}^2$) en naranjilla sobre atributos de calidad como pH, acidez total (AT), contenido de sólidos solubles (SS), la relación SS/AT (*ratio*) (**Tabla II.1**).

El pH es un parámetro importante en los alimentos ya que afecta al crecimiento y tipo de microorganismos que pueden crecer en un producto e influye en sus propiedades sensoriales y organolépticas (Pataro et al., 2015). Los valores de pH de la naranjilla se incrementaron ligeramente en

función del tiempo de almacenamiento, aunque no se encontró diferencia significativa entre las muestras control y tratadas.

Tabla II.1 pH, AT, SS y *ratio* en frutos de naranjilla control y tratados con radiación UV-C (9,5 kJ/m²) almacenados a 4°C durante 21 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de P < 0,05

Análisis	Tratamiento	Tiempo de almacenamiento a 4°C (días)				Fisher (LSD)
		0	7	14	21	
pH	Control	3,20±0,03 ^c	3,24±0,03 ^b	3,17±0,04 ^d	3,32±0,06 ^a	0,03
	9,5 kJ/m ²	3,18±0,04 ^{cd}	3,20±0,01 ^{cd}	3,18±0,03 ^{cd}	3,20±0,03 ^{cd}	
AT	Control	2,65±0,07 ^c	2,42±0,06 ^d	3,17±0,57 ^b	3,23±0,38 ^b	0,21
	9,5 kJ/m ²	2,66±0,05 ^c	2,65±0,12 ^c	3,83±0,08 ^a	3,79± 0,19 ^a	
SS	Control	4,36±0,21 ^b	4,73± 0,62 ^b	4,69±0,61 ^{bc}	3,46± 0,14 ^d	0,32
	9,5 kJ/m ²	4,71±0,15 ^c	4,66±0,19 ^{bc}	4,96±0,40 ^b	5,31± 0,49 ^a	
Ratio	Control	1,64±0,10 ^{bc}	1,99±0,22 ^a	1,54±0,41 ^{cd}	1,08±0,16 ^f	0,16
	9,5 kJ/m ²	1,77±0,06 ^b	1,76±0,11 ^b	1,29±0,12 ^e	1,40± 0,16 ^{de}	

AT = acidez total titulable (% ác. cítrico); SS = sólidos solubles (°Brix)

La AT aumentó 0,6 y 1,1 unidades en los frutos control y tratados, respectivamente, mientras que la variación de los SS tuvo un comportamiento contrario, en los frutos tratados se registró un incremento de 0,6 unidades y en los frutos control los SS se redujeron en una proporción similar. Como consecuencia de las diferencias registradas en la AT y SS, el *ratio* disminuyó tanto en frutos controles como en tratados, aunque en menor medida en los frutos tratados. Numerosos estudios demuestran que la luz UV-C provoca ligeras variaciones o no afecta a las propiedades fisicoquímicas como el pH, AT y SS durante el período poscosecha de frutos como tomate (Pataro et al., 2015; Lui et al., 2009), arándanos (Perkins-Veazie et al., 2008; Nguyen et al., 2014), banana (Ding e tal., 2006), lima persa (Penta et al., 2017), entre otros, lo cual confirma la suavidad de la radiación UV-C como tecnología poscosecha y que no altera parámetros estos parámetros químicos relacionados con la calidad sensorial de los frutos (Pataro et al., 2015).

Los ligeros cambios registrados en el pH, SS y AT de la naranjilla permitirían mantener mejores características sensoriales del fruto a lo largo del almacenamiento debido a que estas tres propiedades químicas en conjunto influyen en sabor y flavor de los productos que son factores determinantes en la preferencia del consumidor (Civello et al., 2006; Valero y Serrano, 2010).

II.2.4. Color y área de manchas

El color de la piel del fruto es un factor que influye en la preferencia del consumidor y la decisión de compra (Crisosto et al., 2002). Aquí, se analizaron los cambios en parámetros de color (L^* , b^* y Cr^*) y el área de manchas pardas en la superficie del fruto que fue una característica sobresaliente observada durante el almacenamiento (**Tabla II.2**).

Tabla II.2 Parámetros de color (L^* , b^* y Cr^*) y área de manchas superficiales en frutos de naranjilla control y tratados con radiación UV-C ($9,5 \text{ kJ/m}^2$) almacenados a 4°C durante 21 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$

Análisis	Tratamiento	Tiempo de almacenamiento a 4°C (días)				Fisher (LSD)
		0	7	14	21	
L^*	Control	$58,7 \pm 3,2^a$	$60,3 \pm 2,4^a$	$53,7 \pm 5,1^c$	$39,8 \pm 6,9^d$	2,85
	$9,5 \text{ kJ/m}^2$	$60,4 \pm 1,8^a$	$57,7 \pm 2,7^{ab}$	$55,5 \pm 4,6^{bc}$	$58,3 \pm 3,7^{ab}$	
b^*	Control	$34,7 \pm 3,2^{bc}$	$37,7 \pm 2,0^a$	$32,6 \pm 3,7^c$	$21,8 \pm 5,5^d$	2,64
	$9,5 \text{ kJ/m}^2$	$36,6 \pm 1,4^{ab}$	$35,2 \pm 2,3^{abc}$	$32,9 \pm 6,3^c$	$36,4 \pm 2,4^{ab}$	
Cr^*	Control	$38,7 \pm 3,4^{abc}$	$40,1 \pm 2,2^a$	$37,2 \pm 3,4^{bc}$	$26,3 \pm 6,0^d$	2,72
	$9,5 \text{ kJ/m}^2$	$39,6 \pm 1,8^{ab}$	$38,8 \pm 3,4^{abc}$	$36,2 \pm 5,7^c$	$39,0 \pm 2,8^{ab}$	
Área manchas	Control	$1,0 \pm 0,0^f$	$1,9 \pm 0,1^e$	$3,5 \pm 0,2^b$	$3,9 \pm 0,1^a$	0,26
	$9,5 \text{ kJ/m}^2$	$1,0 \pm 0,0^f$	$1,0 \pm 0,4^f$	$2,3 \pm 0,1^d$	$2,8 \pm 0,1^c$	

La naranjilla se cosechó con un desarrollo de color amarillo de 75 a 100% en la superficie dando valores de $L = 58,7$, $b^* = 34,7$ y $Cr^* = 38,7$. Inmediatamente después de aplicada la dosis de $9,5 \text{ kJ/m}^2$ de luz UV-C (día 0) no se produjeron cambios significativos respecto a las muestras control. Mientras que, al final del almacenamiento los valores de L^* , b^* y Cr^* se redujeron en los controles en un rango entre 32 y 37% respecto al inicio del experimento, en tanto que los frutos tratados mostraron valores similares al día 0. Es decir que, el tratamiento UV-C permitió mantener estables tanto el color de la fruta como las reacciones metabólicas asociadas a la pérdida de color, que según explican Reis et al. (2006) incluyen el aumento del pardeamiento enzimático y la fotodegradación de los pigmentos amarillos α y β carotenos (relacionados con L^* y b^*) que si ocurrieron en frutos controles. La pérdida de color en el periodo poscosecha puede ocurrir en días o semanas (Wills y Golding, 2016); en diversos estudios se ha comprobado que la radiación UV-C retrasa la pérdida de color o no causa efectos significativos en la luminosidad, intensidad y cromaticidad de diferentes productos frutihortícolas. Tal como lo demuestran estudios realizados con la aplicación de dosis de $3,7 \text{ kJ/m}^2$ en tomate (Severo et al., 2015, Maharaj et al.,

2014), 7 y 14 kJ/m² en mango, piña y mamey (Márquez-Villacorta et al., 2013), 1,5 y 3 kJ/m² en caqui (Khademi et al., 2013), entre otros.

Por otra parte, según encuestas del Instituto de Mercadeo de Alimentos (Food Marketing Institute) de los Estados Unidos indican que el factor más importante que influye en la decisión de compra es el sabor seguido del valor nutritivo, inocuidad y precio. Al mismo tiempo, los consumidores opinan que la apariencia y la frescura son importantes al inicio de la compra (Bruhn, 1995). Por lo tanto, las tecnologías poscosecha buscan retrasar la senescencia y mantener lo mejor posible la calidad (Siddiqui, 2015), por lo que los cambios que se produzcan en la apariencia visual de los frutos reducen su calidad comercial y organoléptica. En los frutos de naranjilla tratadas y controles se determinó el área de desarrollo de manchas (**Tabla II.2**) usando una escala subjetiva de 1 a 4 (representando del 0 a >20% de la superficie del fruto, respectivamente). La aparición de manchas pardas en la superficie de los frutos fue progresiva durante el periodo de almacenamiento tanto para frutos control como para tratadas. A partir del día 14 los frutos controles presentaron un desarrollo de manchas moderado a intenso con un área de deterioro entre 10 al 20% o mayor, inclusive; en tanto que la radiación UV-C redujo la intensidad del desarrollo de manchas a un valor menor al 10% de la superficie del fruto (desarrollo ligero) con lo que la apariencia visual de los frutos tratados fue mejor que los controles. Las manchas en la superficie del fruto son un tipo de daño físico causante de deterioro producido por el oscurecimiento de tejidos dañados como resultado de la ruptura de membranas exponiendo los compuestos fenólicos a la acción de la enzima PPO (Kader, 2007).

II.2.5. Análisis microbiológicos

Una parte importante de las pérdidas poscosecha de productos frutihortícolas se atribuye a enfermedades causadas por hongos y bacterias (Rawat, 2015), por lo cual uno de los principales objetivos del uso de la radiación UV-C en la industria agroalimentaria es el control de microorganismos para reducir el deterioro y mejorar la calidad de frutas y vegetales durante el almacenamiento (Nigro e Ippolito, 2016).

La dosis de radiación UV-C (9,5 kJ/m²) en naranjilla redujo significativamente el crecimiento tanto de microorganismos aerobios mesófilos totales (AMT) como de mohos y levaduras (M+L). Según se observa en la **Figura II.5a**, la carga microbiana inicial de AMT fue de 4,3 log UFC/g, y que inmediatamente después del tratamiento con luz UV-C se encontró una reducción de 0,6 log UFC/g respecto a los controles. La población de AMT se incrementó progresivamente durante todo el periodo de ensayo,

aunque siempre los controles presentaron mayor carga microbiana que los tratados. Al final del almacenamiento (día 21) se encontró una diferencia de 1,5 log UFC/g entre las muestras.

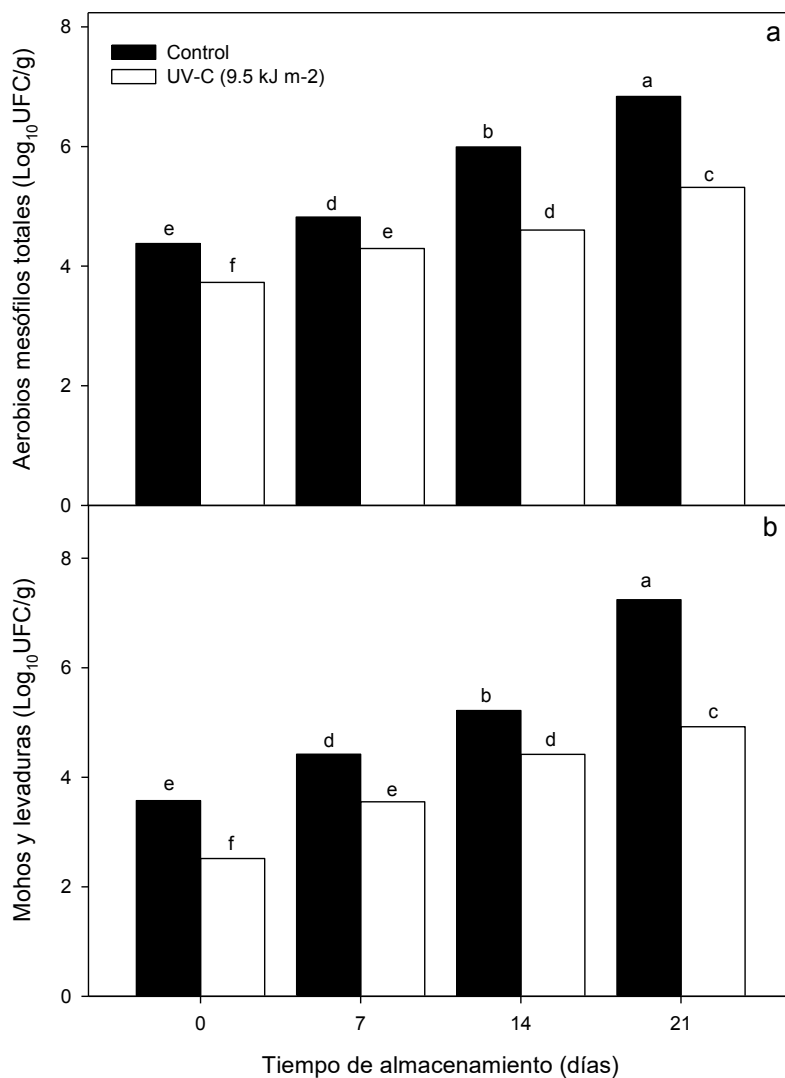


Figura II.5 Población de (a) aerobios mesófilos totales y (b) mohos y levaduras en frutos de naranjilla control y tratados con radiación UV-C (9,5 kJ/m²) almacenados a 4°C durante 21 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de P < 0,05

Para el recuento de M+L se encontraron resultados similares (**Figura II.5b**). La población inicial fue de 3,5 log UFC/g en frutos controles e inmediatamente después del tratamiento con luz UV-C se encontró una reducción de 1 log UFC/g respecto a los controles. El tratamiento UV-C también redujo significativamente la población de M+L durante el almacenamiento, ya que para el día 21 se registró una población de 7,2 y 4,9 log UFC/g para frutos control y tratados, respectivamente. Resultados similares

han sido obtenidos en frutilla (Ortiz-Araque et al., 2018), arándano (Perkins-Veazie et al., 2008), piña (Manzocco et al., 2016), mango y mamey (Márquez-Villacorta et al., 2013) y naranjas (Gunduz et al., 2015) aplicando dosis entre 1 y 14 kJ/m².

El tratamiento de la radiación UV-C para el control de microorganismos depende de la dosis aplicada (Civello et al., 2006) y se basa en dos tipos de efectos: uno directo como agente antimicrobiano y uno indirecto como agente hormético. En relación al primero, está demostrado que la luz UV-C (254 nm) actúa sobre el ADN generando fotoproductos que incluyen dímeros de pirimidina ciclobutano, dímeros pirimidin-pirimidona, hidratos de pirimidina y entrecruzamiento ADN-proteínas (Mitchel et al., 1991; Chen et al., 1994), produciendo como resultado la muerte del microorganismo. En cuanto al efecto hormético, numerosos estudios demuestran que la exposición a la radiación UV-C activa el sistema antioxidante enzimático y no enzimático del tejido (Andrade-Cuvi et al., 2011) e induce síntesis de fitoalexinas (Sripogon et al., 2015; Nigro e Ippolito, 2016; Vásquez et al., 2017; Scott et al., 2017). Las fitoalexinas sintetizadas como respuesta de defensa del tejido frente al estrés biótico y abiótico, son metabolitos secundarios de bajo peso molecular con estructuras muy diversas como derivados fenólicos, terpenoides, furanoacetilenos, esteroides glicoalcaloides e indoles (Jeandet, 2015). A partir de matrices vegetales se han caracterizado fitoalexinas como risitina, fituberina, anhidro- β -rotunol y solavetivona de solanáceas (Jeandet et al., 2014), ácido cinámico, derivados del estilbeno y resveratrol en especies de *Cannabis* y *Vitis* (Marti et al., 2014), entre otros; y se estudia su efecto antimicótico y antibacteriano, cardioprotector, antitumoral, neuroprotector y antioxidante (Jeandet et al., 2012). En el caso particular de naranjilla, no hay estudios al respecto, por lo que es nuestra intención continuar profundizando en ello.

II.2.6. Capacidad antioxidante, compuestos fenólicos y carotenoides totales

En los últimos años se ha venido utilizando la evaluación del estado redox de una matriz alimentaria como indicador de la calidad tanto de productos frescos, procesados y almacenados con el fin de promover su consumo en base a su funcionalidad (Pompella et al., 2014). Los trabajos de investigación se han enfocado en la cuantificación de antioxidantes específicos, por ejemplo tocoferoles, β -caroteno, compuestos fenólicos, entre otros, con un enfoque composicional; y, por otro lado, el estado antioxidante general de una muestra (parámetro no composicional) determinada por medio de sistemas de prueba *in vitro* basados en el supuesto de que a partir de la contribución de todos los antioxidantes presentes (y de sus interacciones recíprocas), según explican Fraga et al. (2013), puede obtenerse y

expresarse como un único valor numérico, que se conoce como la capacidad antioxidante total expresada como equivalentes de Trolox (TEAC).

En el presente trabajo de investigación se evaluó el efecto de la radiación UV-C sobre la capacidad antioxidante total (TEAC) y el contenido de compuestos fenólicos totales (FT) y carotenoides totales (CT) de naranjilla tratada con radiación UV-C (9,5 kJ/m²), según se muestra en la **Tabla II.3**. La determinación de la TEAC hidrofílica se realizó usando los radicales estables DPPH (depleción del oxido 2,2-difenil-1-picrilhidrazil) y ABTS (depleción del 2, 2'-Azinobis-3-etil- benzotiazolina-6-acido sulfónico) y FRAP (poder antioxidante reductor del hierro), estos métodos son los más utilizados en matrices alimentarias por su simplicidad y reproducibilidad (Mercado-Mercado et al., 2013). Las determinaciones que emplean DPPH y ABTS medirán la capacidad de donar H⁺ y captación de radicales libres, mientras que el FRAP mide la capacidad de reducción del Fe⁺³ a Fe⁺².

Las actividades antioxidantes medidas con los ensayos DPPH, ABTS y FRAP en la naranjilla tratada con radiación UV-C (9,5 kJ/m²) se incrementaron significativamente inmediatamente después del tratamiento respecto a las muestras control. Posteriormente, en el día 7 se registraron valores constantes de la TEAC en los frutos tratados mientras que en los controles se redujo. A partir de este tiempo de almacenamiento la TEAC disminuyó progresivamente hasta el día 21 tanto en frutos controles como tratados, no obstante, estos últimos presentaron valores significativamente superiores a las muestras sin tratamiento. En comparación con los valores iniciales, al final del almacenamiento (día 21) la TEAC de los frutos control se redujo en 20, 40 y 60 % (según los ensayos DPPH, ABTS y FRAP, respectivamente) mientras que con el tratamiento UV-C la reducción fue de 11, 25 y 52 % (según los ensayos DPPH, ABTS y FRAP, respectivamente).

Por otro lado, como se puede observar en la **Tabla II.3**, el contenido inicial de FT en la naranjilla fue de 11,6 mg ác.gálico/g tej. seco y durante el almacenamiento el contenido de FT en los frutos control y tratados disminuyó alrededor del 25 %. La exposición de la naranjilla a la radiación UV-C (9,5 kJ/m²) produjo cambios significativos en el contenido de CT. Luego del tratamiento (día 0) se observó un incremento del 10 % de CT respecto a los controles. Los valores más altos de CT se registraron en el día 7 en frutos control y tratados. Posteriormente se produjo una disminución progresiva hasta el día 21, tiempo en el cual los frutos tratados presentaron 20% más CT que los controles.

Tabla II.3 Capacidad antioxidante equivalente a trolox (mediante las técnicas que emplean DPPH, ABTS y FRAP) y contenido de fenoles totales y carotenoides totales en frutos de naranjilla control y tratados con radiación UV-C (9,5 kJ/m²) almacenados a 4°C durante 21 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de P < 0,05

Análisis	Muestra	Tiempo de almacenamiento a 4°C (días)				Fisher (LSD)
		0	7	14	21	
TEAC-DPPH	Control	4,71 ± 0,19 ^b	4,60 ± 0,24 ^b	4,10 ± 0,19 ^d	3,70 ± 0,08 ^e	0,22
	9,5 kJ/m ²	4,94 ± 0,16 ^a	5,12 ± 0,19 ^a	4,17 ± 0,04 ^{cd}	4,36 ± 0,28 ^c	
TEAC-ABTS	Control	1,90 ± 0,15 ^b	2,28 ± 0,26 ^a	1,81 ± 0,37 ^b	1,39 ± 0,15 ^c	0,29
	9,5 kJ/m ²	2,29 ± 0,23 ^a	2,34 ± 0,24 ^a	1,82 ± 0,19 ^b	1,74 ± 0,29 ^b	
TEAC-FRAP	Control	5,45 ± 0,18 ^b	4,81 ± 0,20 ^c	3,33 ± 0,13 ^e	2,18 ± 0,13 ^g	0,20
	9,5 kJ/m ²	5,55 ± 0,11 ^{ab}	5,73 ± 0,17 ^a	3,74 ± 0,29 ^d	2,92 ± 0,12 ^f	
Fenoles totales (FT)	Control	11,6±2,3 ^a	10,9±0,5 ^{ab}	8,7±0,1 ^{bc}	8,3±0,1 ^c	1,96
	9,5 kJ/m ²	11,6±0,0 ^a	10,9±0,2 ^{ab}	9,2±0,1 ^c	8,8±0,2 ^c	
Carotenoides totales (CT)	Control	76,6±3,4 ^c	85,7±2,8 ^b	78,4±2,3 ^c	61,4±4,9 ^d	6,94
	9,5 kJ/m ²	88,5±4,2 ^b	114,9±13,3 ^a	91,1±4,5 ^b	75,0±4,4 ^c	

TEAC (mmol Trolox/kg tej. seco); FT (mg ác. gálico/kg tej. seco)
Carotenoides (mg β-caroteno/kg de tej. seco)

Al igual que en este estudio, el ligero aumento de la TEAC luego del tratamiento con luz UV-C ha sido reportado en frutilla (Li et al., 2014), banana (Ding et al., 2015) y arándanos (Perkins-Veazie et al., 2008). Este pequeño aumento inicial de los niveles TEAC no pareciera ser el resultado del incremento de antioxidantes del tipo fenólicos ya que el contenido de FT de las naranjillas tratadas se mantuvo constante. Por ello, los responsables serían otros antioxidantes tales como ácido ascórbico, glutatión, entre otros. Los carotenoides son antioxidantes lipofílicos, por lo que no estarían aportando a los niveles TEAC reportados aquí. Esta condición de mayores niveles de TEAC permite una mejor adaptación y defensa de los productos vegetales frente al estrés posterior que implican las bajas temperaturas del almacenamiento. Es así que también, la reducción de la TEAC durante del almacenamiento en menor proporción con respecto a los frutos no tratados, se ha encontrado en frutillas (Erkan et al., 2008) y tomate (Pataro et al., 2015) tratados con diferentes dosis de radiación UV-C. En otros productos, el estrés inicial del tratamiento UV-C genera la activación de la biosíntesis de antioxidantes y la consecuente acumulación de ellos durante el almacenamiento tal como ocurre en banana (Ding et al., 2015), rúcula mínimamente procesada (Gutiérrez et al., 2015) y arándanos (Perkins-Veazie et al., 2008; Nguyen et al., 2014 y Wang et al., 2009). Por ello, es que cada producto responde de una manera particular frente al tratamiento UV-C y debe ser estudiado. Durante el almacenamiento, los niveles de

antioxidantes aumentan o disminuyen indistintamente según el tipo de producto, grado de madurez, variedad y temperatura de almacenamiento (Alothman et al., 2009; Freitas et al., 2015; Pataro et al., 2015). Según explican Wang et al (2009), las mejores condiciones antioxidantes de los frutos tratados ocurren inmediatamente después de la exposición a la luz UV-C y disminuyen con el tiempo. Está ampliamente aceptado que la vida útil de las frutas y está correlacionada con su contenido de compuestos bioactivos, por lo tanto, el uso de tecnologías que permitan incrementar los niveles de antioxidantes representa una estrategia para mejorar y/o mantener la calidad de la fruta y su vida útil. En resumen, la radiación UV-C aumentó ligeramente la capacidad antioxidante total y el contenido de carotenoides luego del tratamiento y retrasó la pérdida de compuestos antioxidantes durante el almacenamiento refrigerado permitiendo una mejor retención de los mismos y con ello una mejora de la calidad de la naranjilla tratada respecto de los controles.

II.3. Análisis de compuestos fenólicos por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

Existen amplios estudios que relacionan la aparición de enfermedades causadas por el estrés oxidativo y su prevención debido al consumo de vegetales ricos en compuestos fenólicos (Ahmad et al., 2015). Por ello es importante conocer qué tipo de polifenoles se encuentran en un fruto ya que puede ser una fuente viable de antioxidantes naturales y potenciales agentes terapéuticos.

Los cromatogramas de HPLC-DAD de las muestras control y las tratadas con radiación UVC (9,5 kJ/m²) correspondientes al inicio del experimento (día 0) son mostrados en la **Figura II.6**. Se utilizó ácido clorogénico (pico 3) como estándar externo y se realizó una comparación bibliográfica de los compuestos fenólicos presentes en naranjilla (**Tabla II.4**). El perfil de picos del cromatograma de HPLC reportado por Gancel et al. (2008) y Forero et al. (2016) fueron contrastados con el obtenido en el presente estudio con la finalidad de tener un indicio de la posible identidad de los compuestos fenólicos.

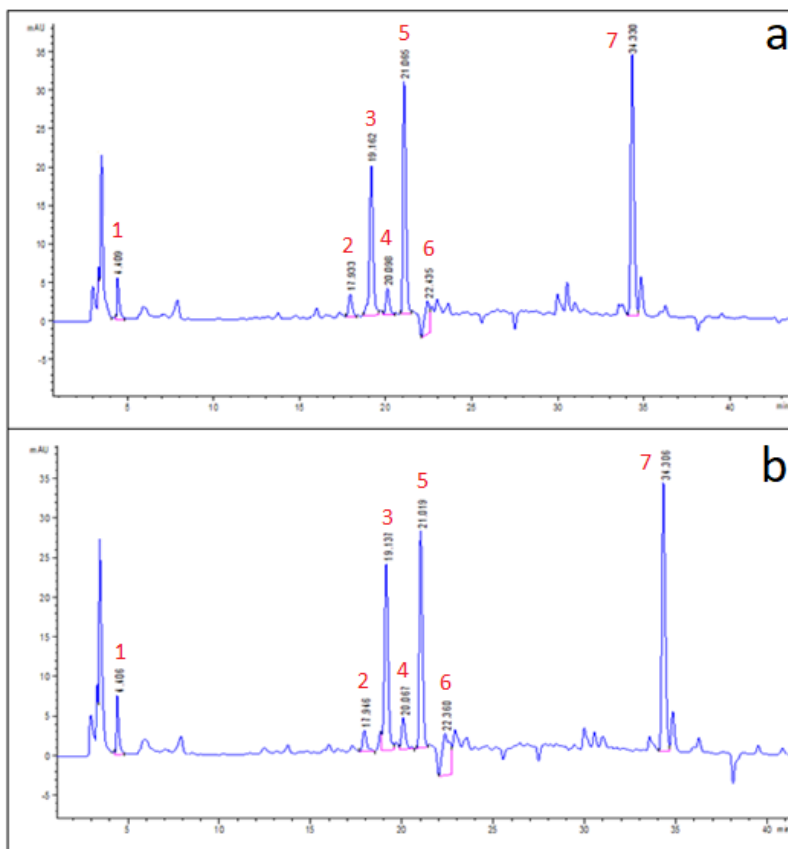


Figura II.6 Cromatograma HPLC-DAD de extractos metanólicos de muestras de naranjilla entera (a) control y (b) tratadas con radiación UV-C (9,5 kJ/m²) correspondiente al inicio del experimento (día 0). Los números de los picos se correlacionan con los detallados en la **Tabla II.3**

Tabla II.4 Compuestos fenólicos por HPLC-DAD de extracto de naranjilla. Identificación tentativa por comparación bibliográfica. Se detalla aquellos con mayor concentración en la muestra (✓)

No.	t _R (*) (min)	Comparación bibliográfica	Referencia bibliográfica	Mayor conc.
1	4,4	N.I.(**)		
2	17,9	Hexósido del N ¹ ,N ⁴ o N ⁴ ,N ⁶ -bis(dihidrocafeoil) espermidina	a	
3	19,1	Ácido 5-O-cafeoilquínico (ácido clorogénico)	a,b	✓
4	20,1	Ácido 4-O-cafeoilquínico (ácido criptoclorogénico)	a	
5	21,1	N ¹ ,N ⁴ or N ⁴ ,N ⁸ -bis(dihidrocafeoil) espermidina	a,b	✓
6	22,4	Dihexósido de Kaempferol		
7	34,3	N ¹ ,N ⁴ ,N ⁸ -tris(dihidrocafeoil) espermidina	a,b	✓

(*) : Tiempo de retención. (**) N.I.: No identificado

a: Gancel et al. (2008); b: Forero et al. (2016)

Los siete picos obtenidos en el cromatograma pueden dividirse en dos grupos. El primero muestra concentraciones predominantes (**Figura II.7**) e incluye los picos número 3, 5 y 7 que respectivamente corresponden a los compuestos: ácido 5-O-cafeoilquínico (ácido clorogénico), y dos derivados de espermidinas, N^1,N^4 o N^4,N^8 -bis(dihidrocafeoil) espermidina y N^1,N^4,N^8 -tris(dihidrocafeoil) espermidina. El segundo grupo incluye aquellos que presentaron menores concentraciones (**Figura II.8**), son los picos 2, 4 y 6 que corresponden a un hexósido de N^1,N^4 o N^4,N^8 -bis(dihidrocafeoil) espermidina, al ácido 4-O-cafeoilquínico (ácido criptoclorogénico) y a un dihexósido de kaempferol, respectivamente; y el pico cromatográfico 1 que no ha sido aún identificado (Gancel et al., 2008).

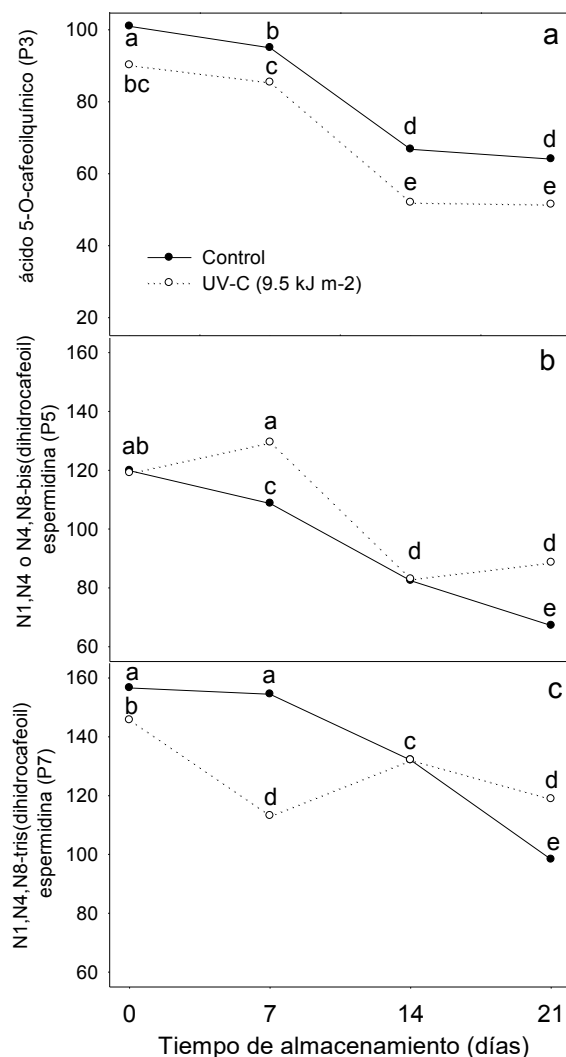


Figura II.7 Variación de la concentración de los picos cromatográficos de mayor concentración (expresados como mg equivalentes de ác. clorogénico/100 g tej. seco): (a) P3, ácido 5-O-cafeoilquínico, (b) P5, N^1,N^4 o N^4,N^8 -bis(dihidrocafeoil) espermidina y (c) P7, N^1,N^4,N^8 -tris(dihidrocafeoil) espermidina. Identificados según Tabla II.3) determinados en el extracto metanólico de naranjilla control (C) y tratada ($9,5 \text{ kJ/m}^2$) (UV-C) almacenada en refrigeración (4°C) durante 21 días

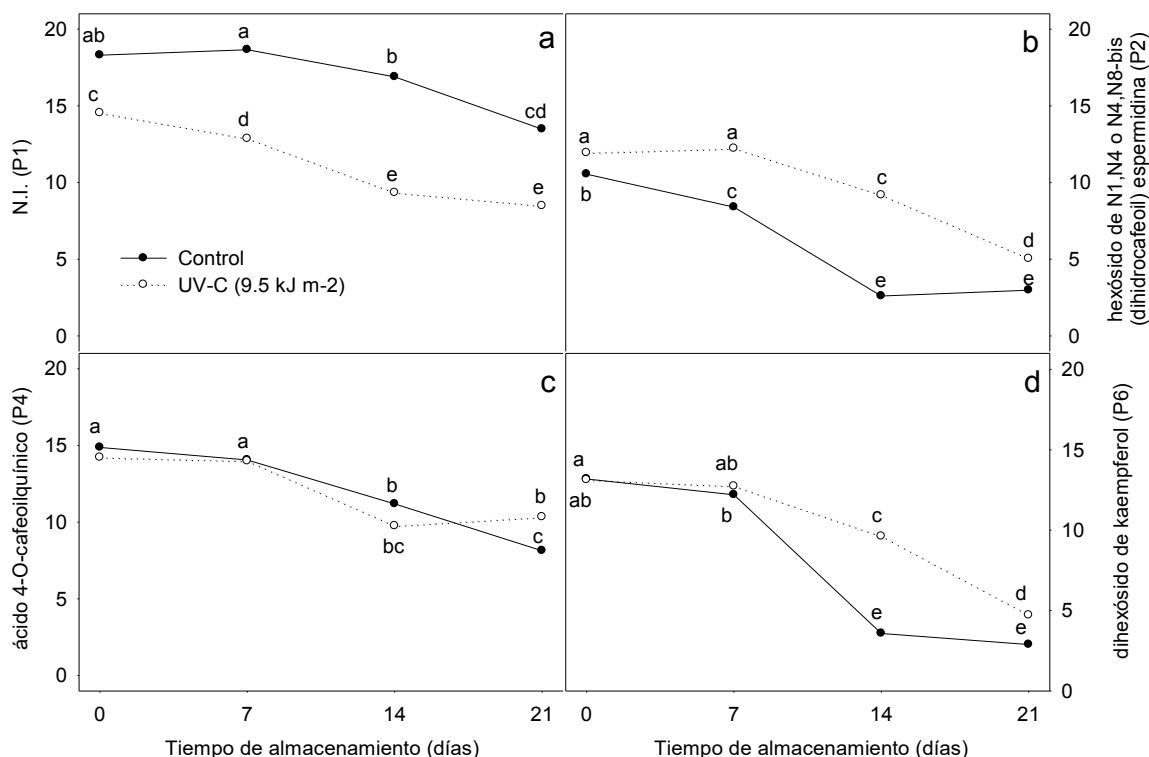


Figura II.8 Variación de la concentración de los picos cromatográficos de menor concentración (expresados como mg equivalentes de ác. clorogénico/100 g tej. seco): (a) P1, No identificado, (b) P2, hexósido de N¹,N⁴ o N⁴,N⁸-bis(dihidrocafeoil) espermidina, (c) P4, ácido 4-O-cafeoilquinico y (d) P6, dihexósido de kaempferol. Identificados según Tabla II.3) determinados en el extracto metanólico de naranjilla control (C) y tratada (9,5 kJ/m²) (UV-C) almacenada en refrigeración (4°C) durante 21 días

Luego de 21 días de almacenamiento refrigerado, los picos cromatográficos 5 y 7 presentaron una disminución significativa de 43 y 37% para los frutos control, respectivamente, en tanto que en los frutos tratados esta disminución fue de 25 y 18%, respectivamente (**Figura II.7**). La reducción en el contenido de compuestos polifenólicos osciló en un rango de 26 al 78% indistintamente del tratamiento. También se observó que los picos cromatográficos 2, 5, 4, 7 y 6 de los frutos tratados presentaron valores significativamente mayores que los controles en el día 21. Los picos 2 y 6 presentaron mayor concentración en los frutos tratados a partir del día 7 hasta el final del almacenamiento, no obstante, son compuestos fenólicos se encontraron en bajas concentraciones en la naranjilla (**Figura II.8**). La aplicación de la radiación UV-C produjo el incremento de concentración del pico cromatográfico 2 únicamente, mientras que durante el almacenamiento de manera general se observó una disminución de concentración de los compuestos fenólicos tanto en frutos control como en tratados.

Se ha comprobado que el ácido clorogénico y sus derivados (picos cromatográficos 3 y 4; **Figura II.7a, II.8c**) tienen actividad citotóxica, antimicrobiana y antioxidante (Bajko et al., 2015) y se encuentran ampliamente distribuidos en vegetales como tomate (*Solanum lycopersicum*), berenjena (*Solanum melongena*) y papata (*Solanum tuberosum*), y de los cuales hemos ya hablado previamente en la sección 3.2. Las ligeras diferencias de concentración de estos picos entre naranjillas control y tratadas, podría estar explicando la similitud de respuesta encontrada al cuantificar compuestos fenólicos totales por el método de Folin&Ciocalteu reportado previamente (**Tabla II.3**).

Los compuestos relacionados con los picos cromatográficos 2, 5 y 7 (**Figura II.8b, II.7b, II.7c**), derivados de espermidinas, han sido identificados en naranjilla (*Solanum quitoense*). Estos compuestos bioactivos están relacionados con el aporte de sabor amargo del fruto y existen evidencias que indican que inducen efectos funcionales para el control de la hipertensión (Forero et al., 2016). Por otro lado, derivados de dihidrocafeoil espermidina (pico cromatográfico 2) también han sido descritas en diferentes especies de *Solanum* y se ha estudiado sus efectos hipotensivos y su acción antitripanosómica (Parr et al., 2005). La espermidina es una poliamina alifática al igual que putrescina, espermina y cadaverina. Las poliaminas son un grupo de metabolitos nitrogenados de bajo peso molecular presentes en todas las células vegetales (Faust y Wang, 1992) e intervienen en diversos procesos fisiológicos y protección contra distintos tipos de estrés biótico y abiótico (Gill y Tuteja, 2010). Por su carácter catiónico, estos compuestos pueden unirse y formar complejos con moléculas aniónicas como algunas proteínas, ADN, ARN, fosfolípidos y pectinas (Faust y Wang, 1992). Debido a ello pueden causar estabilización de membranas. El incremento de los picos 2 y 5 en las naranjillas tratadas podría estar contribuyendo a la mayor estabilización de pectinas y membranas y con ello reforzar la firmeza de estos frutos mencionada previamente (**Figura II.4c**). Asimismo, están involucradas con diferentes rutas metabólicas (comparte el precursor S-adenosilmetionina o SAM con el etileno), además participan en los procesos de secuestro de radicales libres (Ha et al., 1998) y estimulación de algunas enzimas del sistema de defensa antioxidante (Kwak et al, 2003). Las poliaminas pueden presentarse en forma libre o conjugada con ácidos orgánicos, como es el caso de lo observado aquí en naranjilla.

El kaempferol y compuestos derivados (pico cromatográfico 6.; **Figura II.8c**) son flavonoles y han sido identificados en infusión de especies de *Sambucus* y su consumo se ha relacionado con la reducción del riesgo de cáncer y enfermedades cardiovasculares (Todorovic et al., 2017).

II.4. Análisis del extracto etanólico de naranjilla por cromatografía gaseosa y espectrometría de masas (CG-EM)

El extracto etanólico de naranjilla liofilizada fue analizado por CG-EM para determinar su composición química. CG-EM es una de las mejores técnicas para identificar constituyentes volátiles de diferentes matrices y compuestos alifáticos cadenas hidrocarbonadas largas y ramificadas, alcoholes, ácidos, ésteres, entre otros (Sermakkani y Thagapandian, 2012). La técnica de CG es también la más usada para el análisis de ácidos grasos. La técnica de determinación de estos ha sido por años la derivatización de los ácidos grasos y formación de ésteres con alcoholes de cadena corta, debido a que los ácidos grasos poseen alto punto de ebullición, resultan difíciles de evaporar y con una baja respuesta en el detector FID. La mencionada derivatización requiere varios pasos, es laboriosa, emplea varios reactivos y requiere mucho tiempo. Es por ello que por décadas se han buscado alternativas para no efectuar esa derivatización (Meng et al., 2007; Hua et al., 2011; Zhang et al., 2015). En el presente trabajo de tesis se empleó una nueva generación de columna capilar y la técnica apropiada para la determinación de ácidos grasos y demás compuestos lipofílicos sin tratamiento previo de la muestra. Nuestro interés reside en el hecho de que la naranjilla se consume con la presencia de las semillas, la principal sección del fruto que aportaría este material lipídico. La identificación de los picos se basó en la coincidencia (>95%) de los espectros de masas con la biblioteca del Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (NIST, 2014). Según se muestra en el cromatograma CG-EM (**Figura II.9**) fueron identificados cinco compuestos correspondientes a cuatro ácidos grasos mono y poliinsaturados y una vitamina que se muestran en la **Tabla II.5**. Estos compuestos fueron: pico P1: n-hexadecanoico (ácido palmítico, cadena C16:0), P2: ácido 6-octadecenoico (ácido petroselaidico, cadena C18:1 Δ 6), P3: ácido Z,Z-9,12-octadecadienoico (ácido linoleico, cadena C18:2 Δ 9,12) y P4: el ácido (Z,Z,Z)-9,12,15-octadecatrienoico (ácido linolénico, cadena C18:3 Δ 9,12,15) y P5: α -tocoferol (C₂₉H₅₀O₂).

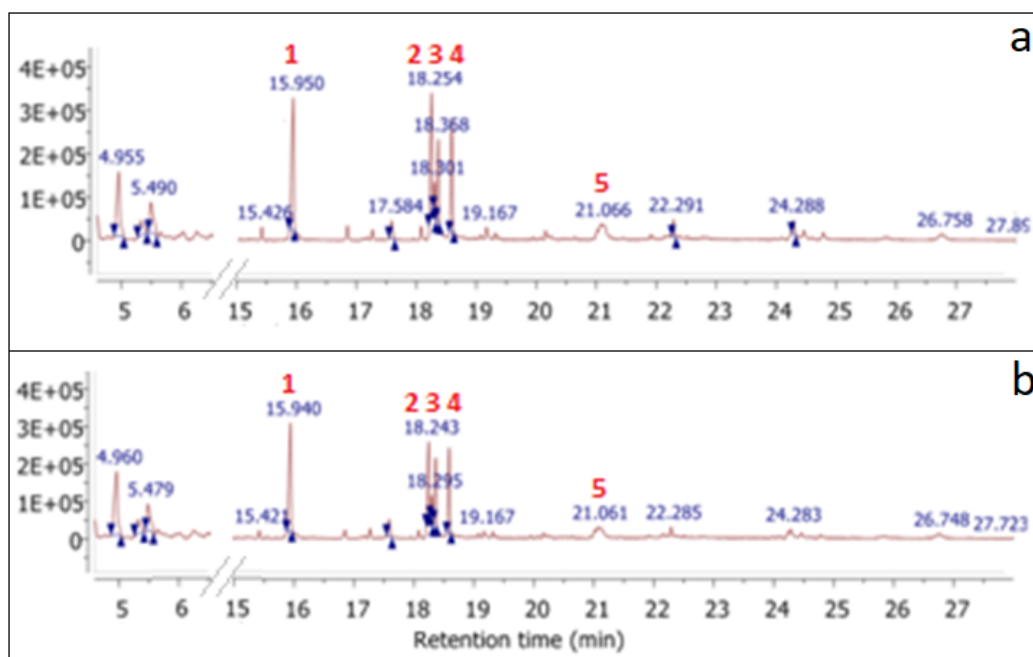


Figura II.9 Cromatograma CG-EM de extractos etanólicos de naranjilla (A) control y (B) tratada ($9,5 \text{ kJ/m}^2$) correspondientes al día 7 de almacenamiento refrigerado (4°C)

Tabla II.5 Identificación de compuestos por CG-EM en naranjilla control y tratada ($9,5 \text{ kJ/m}^2$) almacenada en refrigeración (4°C) durante 21 días

No. Pico	t_R (*) (min)	Compuesto identificado	Nombre común
1	15.950	n-Hexadecanoic acid	Ácido palmítico
2	18.254	6-Octadecenoic acid	Ácido petroselaidico
3	18.342	(Z,Z)-9,12-Octadecadienoic acid	Ácido linoleico
4	18.581	(Z,Z,Z)-9,12,15-Octadecatrienoic acid	Ácido linolénico
5	21.082	DL- α -Tocopherol	Vitamina E

(*) = tiempo de retención

Los compuestos identificados en naranjilla se encuentran en diferentes matrices vegetales como frutas y extractos de plantas medicinales. Se ha identificado el ácido P1: n-hexadecanoico en frutos de pequi (nuez souari), mora del Brasil (*Rubus fruticosus*), pera asiática y *Labisia pumila*, mango y hojas de *Cassia italica* (Damiani et al., 2009; Jacques et al., 2014; Yin et al., 2011; Karimi y Jaffaar, 2011; Lalel et al., 2003; Sermakkani y Thangapandian, 2011), también se encontró en tomate tratado con quitosano e inoculado artificialmente con *Alternaria alternata* (Sánchez-Domínguez et al., 2011). Este compuesto se caracteriza por presentar actividad antioxidante, hipocolesterolémica, nematocida, lubricante, antiandrogénica y aporta al flavor (Sermakkani y Thangapandian, 2011).

Por otro lado, el ácido P3: Z,Z-9,12-octadecadienoico (ácido linoleico) ha sido identificado en pera asiática y mango (Yin et al., 2011; Lalel et al., 2003) y en plantas medicinales como *Nerium oleander* y *Labisia pumilia* y *Cassia italica* (Huang et al., 2011; Karimi y Jafaar, 2011). También como respuesta de tomate a la infección con *Alternaria alternata* (Sánchez-Domínguez et al., 2011). El ácido linoleico presenta actividad antiinflamatoria, nematocida, insecticida, hipocolesterolemica, hepatoprotector, antihistamínica, antiartrítica y antiacné (Sermakkani y Thangapandian, 2011).

El P4: ácido linolenico es menos común entre las especies anteriormente nombradas, se ha identificado en *Cassia italica* y en el sistema patógeno tomate-*Alternaria alternata* (Sánchez-Domínguez, et al., 2011). Según explican Sermakkani y Thangapandian (2011) el ácido linolénico presenta actividad antiinflamatoria, hepatoprotectiva, hipocolesterolémica, anticancerígeno, antihistamínico, antiacné y anticoronaria.

En cuanto al α -focoferol (P5), junto con los isómeros γ - y δ -, y tocotrienoles forman parte de la vitamina E que es obtenida de fuentes naturales como aceites vegetales, hojas verdes, semillas, entre otros y por su actividad antioxidante provee a las plantas protección contra la peroxidación lipídica y estrés por fotooxidación (Singh et al., 2017). El consumo de vitamina E está relacionado con beneficios en el sistema cardiovascular y actividad hipocolesterolémica (Colombo, 2010). El α -focoferol ha sido identificado en semillas y pulpas de frutos exóticos amazónicos (Estevam Ribeiro et al., 2018) y su concentración varía en diferentes tejidos de la planta y es influenciado por estímulos internos y externos como luz, baja temperatura, sal y sequía (Singh et al., 2017). No se encuentran estudios publicados que hayan determinado la presencia de tocoferol en naranjilla.

Mediante la comparación de las áreas de los picos cromatográficos se evaluó variación de la concentración de los compuestos identificados a largo del almacenamiento refrigerado. Como se observa en la **Figura II.10**, inmediatamente después de la exposición del fruto a una dosis de 9,5 kJ/m² de radiación UV-C se observó un incremento en la concentración de todos los compuestos identificados (excepto P5: α -tocoferol). Durante el almacenamiento, todos los ácidos grasos identificados (P1: n-hexadecanoico, P2: 6-octadecenoico, P3: Z,Z-9,12-octadecadienoico y P4: Z,Z,Z-9,12,15-octadecatrienoico) mostraron un comportamiento similar entre control y tratados presentando los mayores valores al día 7, a partir del cual disminuyeron en ambas muestras, no obstante, en estos últimos su pérdida fue menor.

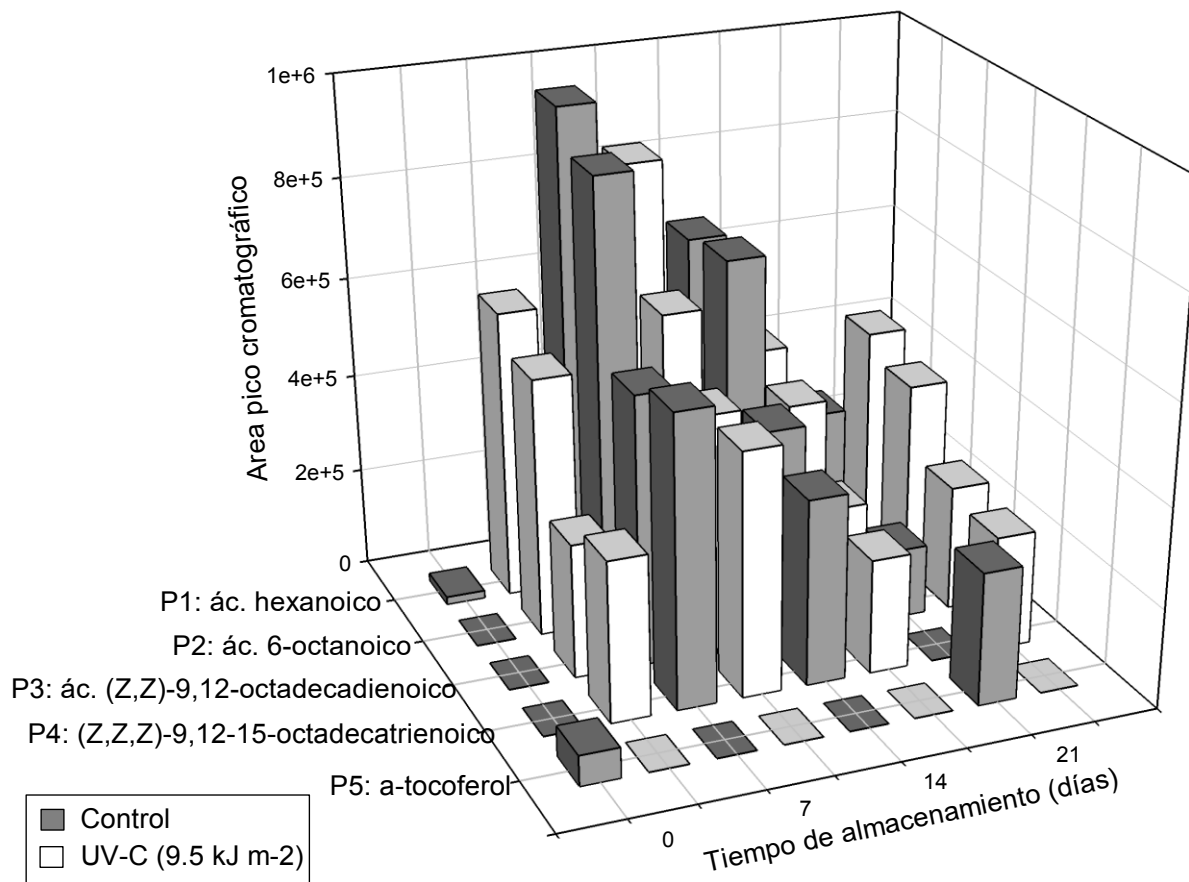


Figura II.10 Áreas de picos cromatográficos: P1 (ác. hexanoico), P2 (ác. 6-octanoico), P3 (ác. (Z,Z)-9,12-octadecadienoico), P4 (ác. Z,Z,Z)-9,12,15-octadecatrienoico y P5 (α-tocoferol) extraídos con etanol e identificados por CG-EM en naranjilla control y tratada (9,5 kJ/m²) almacenada en refrigeración (4°C) durante 21 días

El presente estudio revela la presencia de componentes bioactivos en naranjilla convirtiéndola en una materia prima que debería ser evaluada como una fuente potencial para la extracción de estos compuestos y el aprovechamiento de subproductos industriales o variedades con menor importancia comercial para el consumo y comercialización; por otro lado, dadas las características de los compuestos identificados (actividad antioxidante, insecticida, nematocida, entre otras) y su incremento como respuesta a la exposición a la radiación UV-C podrían estar relacionados con la mejor calidad y mayor vida útil del fruto respecto a los controles.

II.5. Análisis de componentes principales

El PCA se realizó usando una matriz de correlación con componentes de calidad fisicoquímica, fisiológica, microbiológica y antioxidante de naranjilla control y tratada con radiación UV-C ($9,5 \text{ kJ/m}^2$) y almacenada en refrigeración durante 21 días con el fin de conocer las relaciones entre las 20 variables objeto de estudio y el tratamiento poscosecha y el tiempo de almacenamiento para así determinar que características permiten discriminar la efectividad de la radiación UV-C como tratamiento poscosecha. En la **Tabla II.6** se muestra la varianza total de cada variable y la varianza acumulada que indican la proporción de la variabilidad en los datos de cada PC y proporción acumulada de la variabilidad de la muestra explicada por PC consecutivos, respectivamente. El número de PC se definió según el criterio de Kaiser para lo cual se seleccionaron valores propios mayores a 1 (Irwing et al., 2018). Se realizó una comparación de la distribución de datos con cuatro y cinco PC. Se encontró gran diferencia en las varianzas de las variables que describen cada PC por lo que se definieron cuatro PC.

Tabla II.6 Valor propio, varianza total y acumulada de las variables utilizadas para la determinación de los componentes principales en base a la matriz de correlación aplicada a 21 atributos de calidad poscosecha de naranjilla y el tratamiento con radiación UV-C ($9,5 \text{ kJ/m}^2$) y posterior almacenamiento en refrigeración (4°C) durante 21 días. (Valor resaltado con rojo: varianza acumulada para 4 PC)

Número valor	Valor propio	Varianza total (%)	Acumulada (%)
1	11,26	53,65	53,65
2	2,99	14,27	67,93
3	1,42	6,80	74,73
4	1,24	5,94	80,67
5	1,03	4,94	85,62
6	0,74	3,55	89,17
7	0,59	2,82	92,00
8	0,48	2,28	94,28
9	0,37	1,79	96,08
10	0,20	0,95	97,03
11	0,16	0,80	97,84
12	0,15	0,75	98,60
13	0,10	0,51	99,11
14	0,05	0,25	99,37
15	0,03	0,17	99,55
16	0,03	0,15	99,70
17	0,02	0,10	99,81
18	0,01	0,07	99,89
19	0,01	0,05	99,95
20	0,00	0,03	99,98
21	0,00	0,01	100,0

El 80,67% de la variación total en los atributos de calidad poscosecha analizadas en la naranjilla durante el almacenamiento refrigerado se representaron con cuatro PC. En la tabla **Tabla II.7** constan las varianzas de las variables que describen cada PC; las correlaciones $r \geq |0.50|$ se consideraron como las significativas para cada PC.

Tabla II.7 Varianzas de los cuatro componentes (factores) determinados por PCA en base a la matriz de correlación aplicada a 21 atributos de calidad poscosecha de naranjilla control y tratada con radiación UV-C (9,5 kJ/m²) almacenada en refrigeración (4°C) durante 21 días
(valor resaltado en rojo: coordenadas factoriales para cada variable)

VARIABLE	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4
Tratamiento	-0,37	0,59	-0,58	-0,10
% pérdida peso	0,87	0,22	0,14	-0,27
ID	0,94	0,18	0,12	-0,18
Etileno	0,33	0,64	0,06	0,36
TR	0,61	0,08	-0,27	-0,65
Firmeza	-0,52	0,31	-0,13	-0,06
pH	0,44	-0,51	-0,05	-0,16
AT	0,52	0,69	-0,23	0,26
SS	-0,41	0,67	0,21	-0,17
Ratio	-0,70	-0,17	0,36	-0,35
L*	-0,79	0,38	0,32	-0,03
b*	-0,73	0,38	0,40	-0,12
Cr*	-0,72	0,35	0,42	-0,13
Manchas	0,93	0,27	0,09	-0,10
M+L	0,95	-0,10	0,11	-0,15
AMT	0,93	-0,12	0,21	-0,14
FT	-0,84	-0,36	-0,01	0,09
CT	-0,55	0,25	-0,36	-0,38
TEAC-ABTS	-0,73	-0,09	-0,08	-0,19
TEAC-DPPH	-0,88	-0,09	-0,21	-0,16
TEAC-FRAP	-0,93	-0,25	-0,09	0,011

Se elaboró también la gráfica de doble proyección (**Figura II.11**) que demuestra la distribución de las variables respecto a los PC 1 y 2. La variabilidad del PC1 (53,65 %) explica una relación cercana con 15 de las 21 variables bajo estudio es decir que dosis de 9,5 kJ/m² en la naranjilla afecta directamente a la pérdida de peso, avance del deterioro y características como firmeza, color superficial, microbiológicas y antioxidantes, a excepción del pH, AT, SS y producción de etileno. En complemento, estas tres primeras variables junto con el tratamiento son los principales atributos que caracterizan el 14,28 % de variabilidad total correspondiente al PC2 y según se observa en la **Figura II.11** se encuentran claramente separadas de los atributos restantes y están descritos por valores positivos (excepto pH que está descrito con valores negativos). El 6,8 % de la varianza total representada por el PC3 está directamente

relacionada con el tratamiento descrito por valores positivos, en tanto que el 5,9 % de la varianza total representada por el PC4 está relacionada con la tasa de respiración descrita con valores negativos.

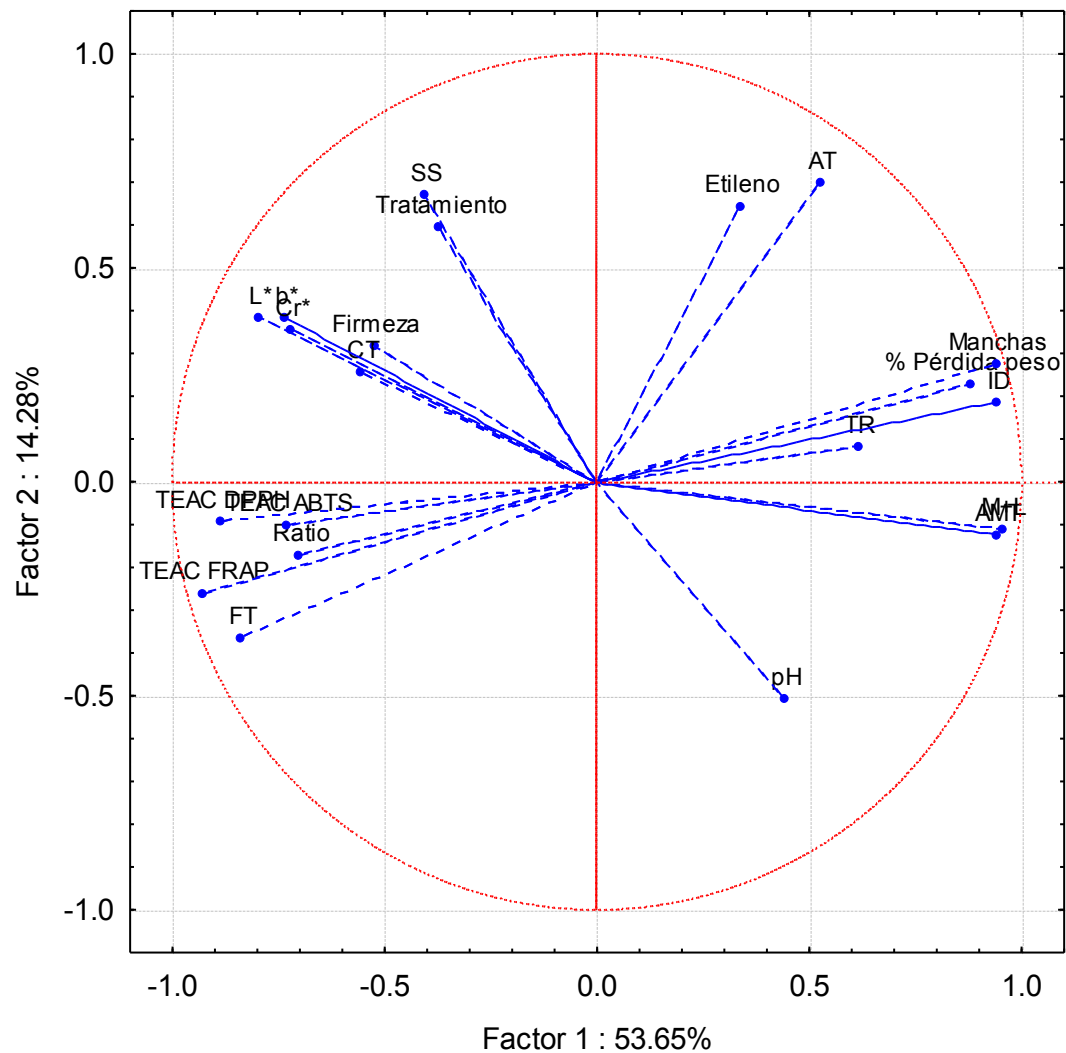
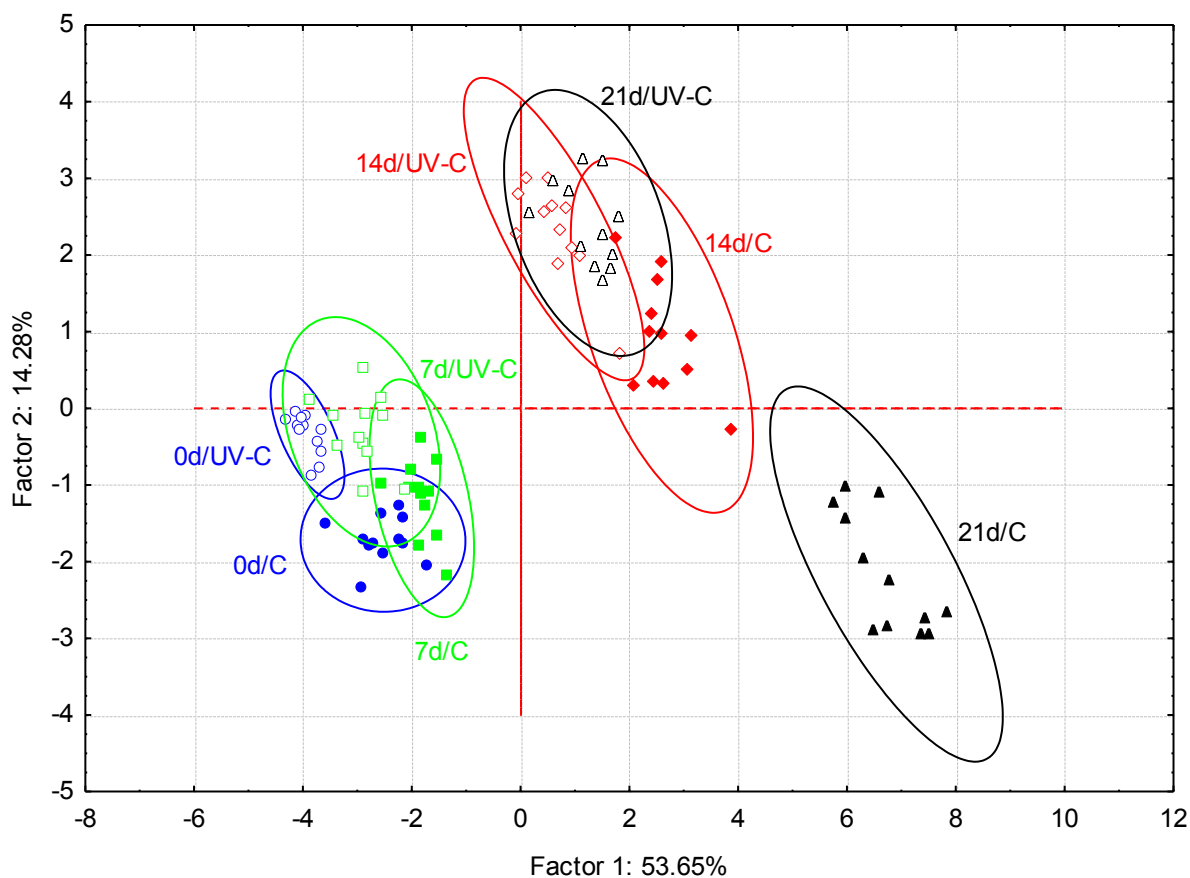


Figura II.11 Gráfica de doble proyección de los componentes principales que muestran la correlación aplicada a 20 atributos de calidad poscosecha de naranjilla control y tratada con radiación UV-C ($9,5 \text{ kJ/m}^2$) almacenada en refrigeración (4°C) durante 21 días

La calidad de los productos frutihortícolas está definida principalmente por la apariencia (visual), la textura, el flavor y el contenido nutricional (Kader, 2007) y estos atributos fueron encontrados en el PC1; las características de color (L^* , b^* y Cr^*), la firmeza y las propiedades antioxidantes (TEAC y FT) son descritos por valores negativos en tanto que atributos relacionados con la apariencia (ID, área de manchas y el peso) y las características microbiológicas son descritos por valores positivos cercanos a 0 y están altamente correlacionados con el PC1.

Las elipses representadas en la **Figura II.12** encierran los valores de los frutos de naranjilla control y tratadas en los diferentes días de almacenamiento. Se demuestra que el tratamiento poscosecha (radiación UV-C, aplicada con una dosis de $9,5 \text{ kJ/m}^2$) produce características en los frutos que permiten claramente la diferenciación de tres grupos. Un primer grupo con valores cercanos a -1 está representado por las muestras control y tratadas de los días 0 y 7; un segundo grupo (con valores cercanos a 1) corresponde a tiempos de almacenamiento de días 14 de frutos tratados y controles, y 21 días de los frutos tratados. En el tercer grupo se encuentran las muestras control pertenecientes al día 21. Esta distribución demuestra la diferenciación del día 21 de las muestras control mostrando el claro efecto de la radiación UV-C que produjo un incremento de 7 días en la vida útil de la naranjilla.

El PCA permite confirmar las diferencias encontradas con el análisis de varianza realizado con las variables objeto de estudio como resultado del efecto de la radiación UV-C como tratamiento poscosecha en naranjilla. Este tipo de análisis multivariado ha sido utilizado en trabajos de investigación con diferentes objetivos. Así han permitido evaluar la calidad de sandía en respuesta a la madurez de cosecha en diferentes injertos y su comportamiento durante el almacenamiento poscosecha (Kyriacou et al., 2015), discriminar diferencias fisiológicas y metabolitos relacionados con el pardeamiento del corazón de la piña durante la poscosecha (Luengwilai et al., 2018), analizar la respuesta a diferentes regímenes de irrigación del aguacate durante el periodo de almacenamiento poscosecha (Ferreyra et al., 2017), estudiar el efecto de la radiación UV-B como tratamiento poscosecha en manzana y su contenido de compuestos fenólicos (Hagen et al., 2007), entre otros. No obstante, son escasos los trabajos publicados con análisis de datos a través de componentes principales en relación al uso de luz UV-C como tratamiento poscosecha. En este sentido, se han realizado estudios de comparación de diferentes subespecies de *Vitis* y la influencia de la radiación UV-C en la síntesis de estilbenos y para evaluar el uso potencial de la luz UV-C en la conservación de manzanas frescas cortadas fortificadas con calcio (Guerrero et al., 2010 y Gómez et al., 2015).



Frutos Control: marcadores rellenos. **Frutos tratados:** marcadores sin relleno.
Tiempo de almacenamiento (días): 0 (círculos azules), 7 (cuadrados rojos), 14 (rombos verdes), 21 (triángulos negros)

Figura II.12 Análisis de componentes principales (PCA) de los dos principales componentes que muestran correlación aplicada a 21 atributos de calidad poscosecha y contenido de compuestos antioxidantes de naranjilla control y tratada con radiación UV-C ($9,5 \text{ kJ/m}^2$) almacenada en refrigeración (4°C) durante 21 días

El análisis de componentes principales ha sumado información y permitido reconfirmar de manera estadística la diferenciación del día 21 de las muestras control respecto del resto de los datos y con ello mostrar el claro efecto de la radiación UV-C que permitió mantener la calidad de naranjillas por más tiempo, incrementando la vida útil de la naranjilla en 7 días.

II. CONCLUSIONES

Los resultados mostraron que todas las dosis de UV-C ensayadas retrasaron el daño por frío o deterioro de los frutos tratados respecto de los frutos control. En particular, la dosis de radiación UV-C de 9,5 kJ/m² fue la más efectiva y podría incrementar la vida poscosecha de la naranjilla en 7 días respecto a los frutos control y los tratados con dosis de 4,5 y 12,5 kJ/m². La dosis de 4,5 kJ/m² comenzó presentando un poco más de deterioro que el resto de los tratamientos UV-C; mientras que, la dosis de 12,5 kJ/m² produjo efectos adversos al final del almacenamiento causando mayor deterioro. Es de destacar que el tratamiento con 9,5 kJ/m² retuvo la calidad del fruto por más tiempo y se seleccionó esta dosis para los ensayos que siguieron.

La evaluación de la calidad poscosecha de naranjilla durante el tiempo de almacenamiento refrigerado demostró que la dosis de 9,5 kJ/m² retuvo atributos importantes de calidad de la naranjilla como firmeza y color, retrasando principalmente los síntomas de daño por frío como el oscurecimiento y el desarrollo de manchas en la superficie del fruto. El tratamiento no produjo efectos perceptibles sobre atributos de calidad como pH, acidez titulable, sólidos solubles y *ratio*, en consecuencia, podría suponerse que los atributos sensoriales no se ven negativamente afectados. Además, la dosis aplicada retardó el crecimiento de microflora nativa de naranjilla (aerobios mesófilos, mohos y levaduras) durante el almacenamiento. A pesar de que la luz UV-C aumentó ligeramente la producción de etileno y la tasa de respiración (variables directamente relacionadas con la maduración y pérdida de agua por transpiración), la calidad global del fruto se mantuvo y la pérdida de peso se vio retrasada por 7 días con respecto a los frutos control (sin tratamiento). Por otro lado, la radiación UV-C permitió mantener una mayor capacidad antioxidante total (determinada por los métodos DPPH, ABTS y FRAP) y mayor contenido de carotenoides sin interferir significativamente con el contenido de compuestos fenólicos totales. Además, produjo una mejor retención de ácido palmítico, petroselinico, linoleico, linolénico (identificados por CG-EM) que también presentan actividad antioxidante convirtiendo a la naranjilla en una fuente potencial para la extracción de compuestos bioactivos.

El análisis global de resultados indica que la radiación UV-C debiera ser considerada como tratamiento poscosecha en naranjilla (9,5 kJ/m²) por tratarse de una tecnología relativamente sencilla y de bajo costo, debiendo evaluarse su implementación a nivel de campo previo al empaque y transporte con el fin de asegurar su efecto hormético y germicida, el retraso de los síntomas de daño por frío y la extensión de la vida útil del fruto y con valor nutricional agregado para el consumidor.

Capítulo III



Aplicación de 1-MCP como tratamiento poscosecha en naranjilla (*Solanum quitoense* Lam)

III. INTRODUCCIÓN

El etileno regula los procesos de maduración y senescencia de varias frutas y hortalizas y está asociado a diversas respuestas a estrés (Saltveit, 1999). El 1-MCP es un bloqueador de la acción del etileno y su uso es una estrategia comercial comúnmente utilizada para extender la vida útil de productos frutihortícolas y plantas ornamentales, además de ser una herramienta fundamental para comprender los procesos bioquímicos involucrados en la maduración y senescencia (Watkins y Miller, 2005). La investigación del uso del 1-MCP como tratamiento poscosecha se ha enfocado principalmente en su efecto sobre la expresión de genes responsables de la biosíntesis de etileno (Valero y Serrano, 2010) y también en sus efectos sobre procesos de maduración. También, la exposición a 1-MCP puede reducir diversos efectos fisiológicos que ocasionen deterioro (escaldaduras, daño por frío, ablandamiento, entre otros) y potenciar síntesis de compuestos bioactivos (Massolo et al., 2011). Por ello se ha estudiado su aplicación en la producción de vegetales frescos cortados, combinación con diferentes condiciones de almacenamiento y con otras tecnologías poscosecha. El 1-MCP se ha aplicado tradicionalmente de forma gaseosa, sin embargo, en los últimos años se han probado alternativas como la fumigación, la inmersión de frutos en soluciones o mediante microburbujeo dosificado con la concentración deseada (Pongprasert y Srilaong, 2014).

Las concentraciones de 1-MCP utilizadas para bloquear la acción del etileno varían ampliamente entre 0,1 nL/L hasta 100 μ L/L según el tipo de producto y su efecto depende de la especie, cultivar, tejido y modo de inducción de la síntesis de etileno, por lo que es necesario evaluar la combinación entre concentración y tiempo de exposición al 1-MCP para conseguir los mismos efectos fisiológicos (Sisler y Serek, 1997; Valero y Serrano, 2010). Los resultados encontrados son diversos. Así, en manzanas tratadas con 0,1 y 1 μ L/L por 20 h a 20°C y almacenamiento de 12 días a 20°C y por 5 semanas a 0 °C (y posterior exposición a 20°C por 10 días) se inhibió la producción de etileno entre un 50 y 95%, no así en las frutas control (sin tratamiento) que desarrollaron aromas característicos de su maduración (Lurie et al., 2002). Por otro lado, cuando se aplicó una dosis de 0,45 μ L/L de 1-MCP a tiempos de exposición de 6, 12 y 24 h a 20°C en aguacate se produjo un retraso en la maduración y en el tiempo en que se presentaron los picos respiratorio y climatérico, además se retrasó el ablandamiento del fruto, se presentó menor pérdida de peso y se mantuvo el color verde por más tiempo (Jeong et al., 2001). La aplicación de dosis de 0,10 a 0,25 μ L/L en frutillas retrasó la aparición del decaimiento y el aumento de 1-MCP a una concentración de 0,50 μ L/L aumentó su vida útil (manteniendo la firmeza) e inhibió la producción de etileno y la acción de PAL (enzima clave en la biosíntesis de compuestos fenólicos), además se redujo la pérdida de color del fruto (Jiang et al., 2001). Uno de los productos en los que se ha

estudiado ampliamente el uso del 1-MCP es la banana, comprobándose que una dosis de 0,20 $\mu\text{L/L}$ por 24 h a 20°C (80–90% HR) produce un retraso en la conversión de azúcares a partir de la hidrólisis del almidón (retrasando el aumento de sólidos solubles) y reduce la acidez titulable (Jiang et al., 2004).

También se ha evaluado el uso del 1-MCP para el control del crecimiento microbiano principalmente de hongos filamentosos causantes de enfermedades poscosecha y productores de micotoxinas. Estiarte et al. (2016) reportaron que tomates infectados con *Alternaria alternata* tratados con dosis de 0,6 $\mu\text{L/L}$ de 1-MCP por 24h presentaron en algunos casos, mayor crecimiento que los frutos no tratados; mientras que Su y Gluber (2012) encontraron que diferentes dosis de 1-MCP (0,6 $\mu\text{L/L}$ por 12h y 1 $\mu\text{L/L}$ por 6 h) en tomate reducen la incidencia de enfermedades causadas por *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea* y *Fusarium* spp. Sin embargo, los resultados no fueron positivos en todos los casos comprobándose que el uso del 1-MCP es una tecnología útil para el control del desarrollo fúngico en muchos casos, pero que depende de la variedad y grado de madurez del fruto, y mostrándose efectivo para retrasar el decaimiento hasta un cierto período de almacenamiento. Este aspecto se estudiará en detalle en el siguiente capítulo de la tesis.

El uso de 1-MCP en manzana, kiwi, tomate, banano, ciruela, caqui, aguacate y melón ha sido aprobado y aceptado para el uso en más de 34 países, entre ellos la Unión Europea y Estados Unidos. Como se ha mencionado anteriormente, uno de los factores que más influyen sobre el efecto del 1-MCP es el grado de madurez del fruto. Cuando las aplicaciones se realizan en estados tempranos, el efecto observado es claramente mayor, aunque numerosos procesos vinculados a la maduración ya se han iniciado, pero continuarán a menor velocidad (Watkins, 2006). Mientras que, en aplicaciones demasiado tempranas, la detención de la maduración podría ser tan marcada que perdería sentido la aplicación desde una perspectiva comercial debido a que los productos requerirían excesivo tiempo para alcanzar la madurez óptima de consumo o tal vez nunca la alcanzarían. En el presente trabajo se decidió trabajar con frutos en grados de madurez 4-5.

En diversos productos se ha estudiado el efecto de la aplicación de 1-MCP sobre la concentración de compuestos bioactivos y la calidad nutricional, se encontró por ejemplo que existe un incremento de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante durante el almacenamiento; mientras que no se afectó el contenido de flavonoides y antocianinas en manzanas, a diferencia de tomate donde la concentración de licopeno se vio reducida (Hoang et al., 2011; Fawbush et al., 2009). Se ha relacionado también la aplicación del 1-MCP con cambios en la actividad de enzimas antioxidantes y aquellas relacionadas con el pardeamiento enzimático (Saltveit, 2004). Se ha encontrado un incremento significativo en la actividad de enzimas como peroxidasa, catalasa, superóxido dismutasa en cilantro

tratado con 1-MCP y almacenado a 5°C (Hassan y Mahfouz, 2012), en tanto que en melón amargo se redujo la actividad de estas enzimas luego de la aplicación de dosis de 0,5 y 5 µL/L (12h) proponiendo al uso del 1-MCP como una alternativa eficaz para mantener la calidad y los procesos fisiológicos del producto (Han et al., 2015).

La mayoría de los estudios de los efectos del 1-MCP se han realizado con frutos climatéricos, no obstante, se encuentran productos no climatéricos en los que se ha aplicado el 1-MCP como cerezas, cítricos y frutillas. En muchos casos, el 1-MCP mantiene o retrasa el deverdizado en naranja, mandarina y lima, cambios que están relacionados con procesos de maduración como la degradación de clorofila y la acción del etileno (Jomori et al., 2003; Porat, et al., 1999).

No se encuentran estudios publicados acerca del uso de esta tecnología como tratamiento poscosecha en frutos exóticos como naranjilla, uvilla, mortiño, entre otros.

Además de la relación del uso de 1-MCP y el retraso de la maduración debido a la inhibición de la síntesis de etileno, se ha relacionado también con la menor incidencia de síntomas de daño por frío (Salvador et al., 2006); haciéndose necesaria conocer la respuesta de los productos a la aplicación de esta tecnología y su efecto sobre los diferentes procesos fisiológicos de maduración y senescencia involucrados en su calidad y vida útil poscosecha, así como en sus características antioxidantes. En este sentido, en el presente capítulo se evaluó el rol del etileno en la respuesta poscosecha de naranjilla y evaluar el potencial de la aplicación de 1-MCP para mantener la calidad poscosecha de naranjilla refrigerada y su efecto sobre el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

III.1. Selección de tiempo de exposición a 0,5 µL/L de 1-MCP y tiempo de almacenamiento de naranjilla

En el presente trabajo de investigación se evaluó la exposición de naranjillas durante 8, 12 y 24 h a una concentración de 0,5 µL/L de 1-MCP a 12 °C. El tiempo de exposición más eficiente se evaluó en base a la pérdida de peso y el avance del deterioro de frutos de naranjilla almacenados a 4 °C durante 28 días (Tabla III.1).

Tabla III.1 Índice de deterioro y pérdida de peso en frutos de naranjilla control y expuestos durante 8, 12 y 24 horas a 0,5 µL/L 1-MCP y almacenados a 4°C durante 28 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$

Exposición		Tiempo de almacenamiento (días)					LSD Fisher
1-MCP (0,5 µL/L)		0	7	14	21	28	
Pérdida de peso (%)	0	0,0±0,0 ⁱ	3,8±0,98 ^g	7,1±0,6 ^e	9,7±0,8 ^c	12,5±2,0 ^a	1,03
	8h	0,0±0,0 ⁱ	3,2±0,74 ^{gh}	5,8±1,0 ^f	8,5±1,3 ^d	11,1±1,5 ^b	
	12h	0,0±0,0 ⁱ	3,2±0,48 ^{gh}	6,2±0,8 ^{ef}	9,1±0,8 ^{cd}	11,6±0,7 ^{ab}	
	24h	0,0±0,0 ⁱ	2,7±0,37 ^h	5,8±0,8 ^f	8,3±1,0 ^d	11,1±1,3 ^b	
Índice de deterioro (ID)	0	1,0±0,0 ^k	1,4±0,1 ^l	2,1±0,1 ^{ef}	2,9±0,2 ^c	3,5±0,1 ^a	0,17
	8h	1,0±0,0 ^k	1,2±0,1 ^{lk}	1,7±0,2 ^g	2,1±0,3 ^d	2,5±0,3 ^d	
	12h	1,0±0,0 ^k	1,1±0,1 ^{lk}	1,9±0,0 ^g	2,4±0,1 ^d	2,9±0,3 ^c	
	24h	1,0±0,0 ^k	1,2±0,1 ^j	2,0±0,2 ^{fg}	2,2±0,27 ^e	3,3±0,3 ^b	

0 = frutos control (sin tratamiento)

Durante el almacenamiento se incrementó la pérdida de peso tanto de los frutos control como tratados (**Tabla III.1**). A tiempos largos de almacenamiento (día 21) los valores de pérdida de peso fueron de ~10 % para los frutos control y entre 8-9 % para las muestras expuestas a 1-MCP durante 8, 12 y 24 h. En el día 28 de almacenamiento, la pérdida de peso presentó valores que alcanzaron un rango entre 11 y 12%, indistintamente del tratamiento.

Por otro lado, la determinación del ID a lo largo el almacenamiento mostró que en el día 14 los frutos control y los expuestos al 1-MCP por 24 h alcanzaron un valor de ID = 2,1 y 2,0, respectivamente (daño ligero a moderado), y para el día 28 estos valores fueron de ID = 3,5 y 3,3 (daño moderado a severo). El tratamiento con 1-MCP por 8 y 12 h retrasó el avance del deterioro de los frutos de naranjilla, es así que en el día 14 el ID fue de 1,7 y 1,9, respectivamente (sin daño a daño ligero), mientras que para el día 28 estos frutos mostraron un ID = 2,5 y 2,9 (daño ligero a moderado).

Los signos de deterioro y síntomas de daño por frío en los frutos control se presentaron a partir del día 7 mostrando ligero punteado circular o laminar de color pardo en la superficie (**Figura III.1**), en tanto que, en los frutos tratados, indistintamente del tiempo de exposición al 1-MCP aparecieron en el día 14. El deterioro visible del fruto y la consecuente pérdida de calidad organoléptica y comercial de los frutos control y en los expuestos 24h al 1-MCP se presentó en el día 21 mientras que en los frutos tratados con 1-MCP durante 8 y 12 h fue en el día 28, denotando el retraso en los síntomas de daño por frío.

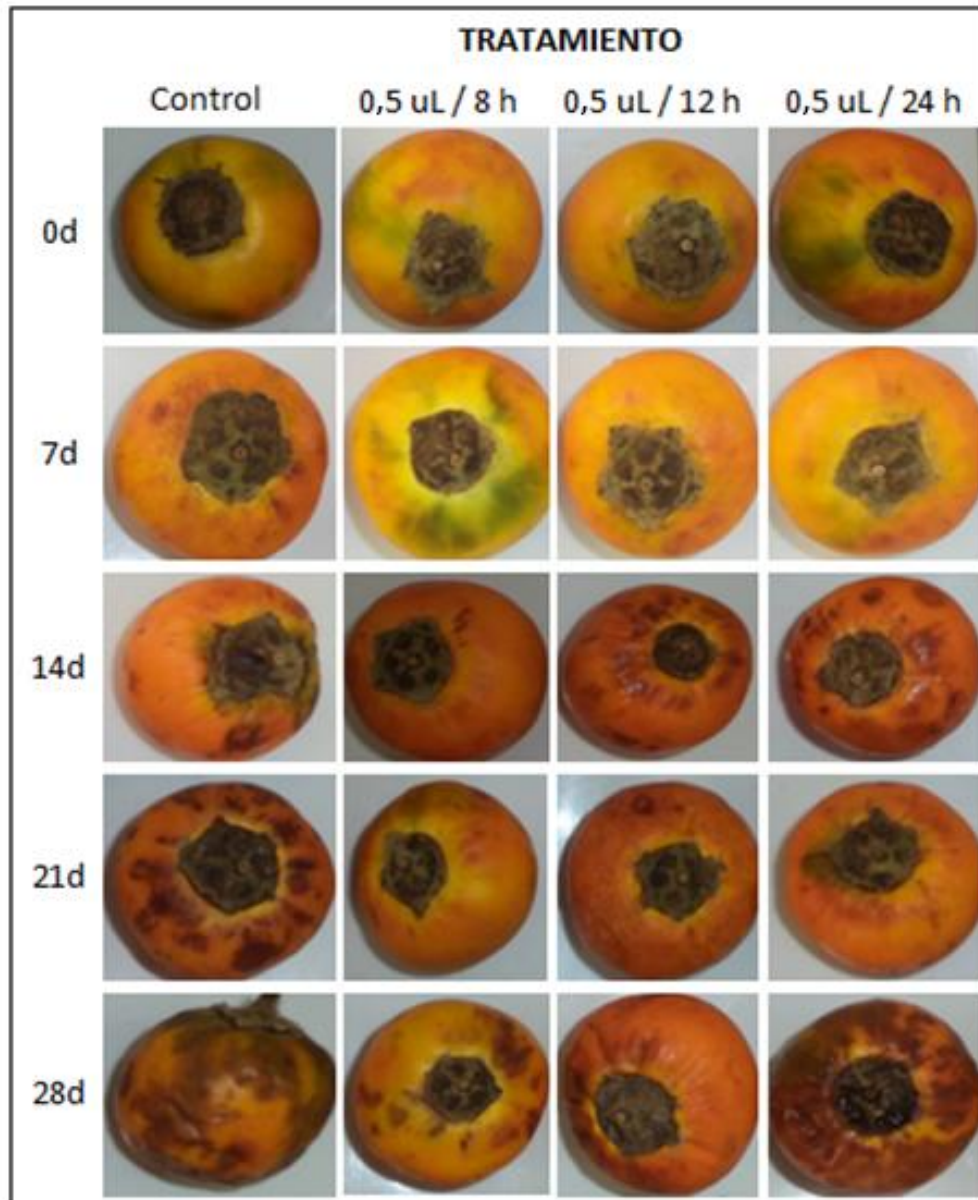


Figura III.1 Apariencia de frutos de naranjilla control y expuestos durante 8, 12 y 24 horas a 0,5 μ L/L 1-MCP y almacenados a 4°C durante 28 días

La pérdida de peso de los productos frutihortícolas frescos durante el almacenamiento es consecuencia de la eliminación de agua, principalmente por transpiración a través de los estomas, lenticelas y células epidérmicas que en suma conduce a la aparición de depresiones en la piel. A diferencia de otras frutas cítricas, la piel de la naranjilla es lisa, por lo que resultaría interesante conocer los cambios estructurales (a nivel microscópico) que ocurren en la superficie del fruto durante el almacenamiento. La mayoría de productos frutihortícolas frescos pierden su calidad comercial y alcanzan mermas de peso alrededor del 3 al 10% constituyendo una de las principales causas de pérdidas económicas en la poscosecha (Van

Hung et al., 2011). Aquí se simuló un envasado en clamshells, que es una de las formas en las que se comercializa en el Ecuador, aunque por los altos valores de % de pérdida de peso obtenidos se recomendaría su almacenamiento en presencia de film permeable.

Tomando en cuenta que la naranjilla es aceptada para su comercialización siempre que mantenga buena calidad visual y que el apareamiento de signos de deterioro producirá el rechazo del consumidor, para propósitos comerciales es importante establecer la duración de la aplicación de una dosis particular de 1-MCP para alcanzar el máximo de eficiencia (Guillen et al., 2007). Trabajos experimentales demuestran que bajas concentraciones de 1-MCP son tan efectivas como altas concentraciones si el tiempo de exposición es prolongado (DeEll et al., 2002). En este sentido, los resultados hallados en este trabajo sugieren que la inhibición de la acción del etileno con la concentración de 1-MCP 0,5 $\mu\text{L/L}$ aplicada por 8 h resultó ser la más efectiva al analizar la mejor apariencia visual, la menor pérdida de peso y el avance del daño por frío o deterioro de los frutos de naranjilla durante 21 días de almacenamiento. Por ello, el tratamiento de 1-MCP 0,5 $\mu\text{L/L}$ por 8h fue seleccionada para efectuar los ensayos posteriores.

III.2. Calidad poscosecha de naranjilla tratada con 1-MCP (0,5 $\mu\text{L/L}$) durante 8 h y posterior almacenamiento refrigerado durante 21 días.

III.2.1. Pérdida de peso e índice de deterioro

La pérdida de peso de los productos frutihortícolas durante el almacenamiento poscosecha es un comportamiento típico, no obstante, la aplicación de las distintas tecnologías poscosecha buscan disminuir una de las principales causas que genera costos económicos para las industrias hortícolas. El tratamiento con 1-MCP (0,5 $\mu\text{L/L}$ - 8h) redujo significativamente la pérdida de peso durante el almacenamiento (**Figura III.2a**). A los 21 días, los frutos control mostraron una pérdida de peso de 7,7 %, en tanto que en los frutos tratados este valor fue de 6,6 %. Igualmente se produjo un retraso significativo en el avance del daño por frío o deterioro de los frutos de naranjilla tratados con 1-MCP. Los primeros síntomas de daño se observaron en frutos control a partir del día 7 y en los tratados a partir del día 14, alcanzando en el día 21 un valor de ID = 3,2 y 1,8 para frutos control y tratados (**Figura III.2b**) correspondiente a daño moderado a severo y ligero a moderado, respectivamente; tiempo en el cual los frutos tratados presentaron mayor firmeza al tacto, menor marchitez en el cáliz y menor turgencia respecto a los controles. La **Figura III.2c** denota la diferencia en la apariencia de los frutos control y tratados y la visible influencia del 1-MCP en el retraso del avance del deterioro de los frutos de naranjilla.

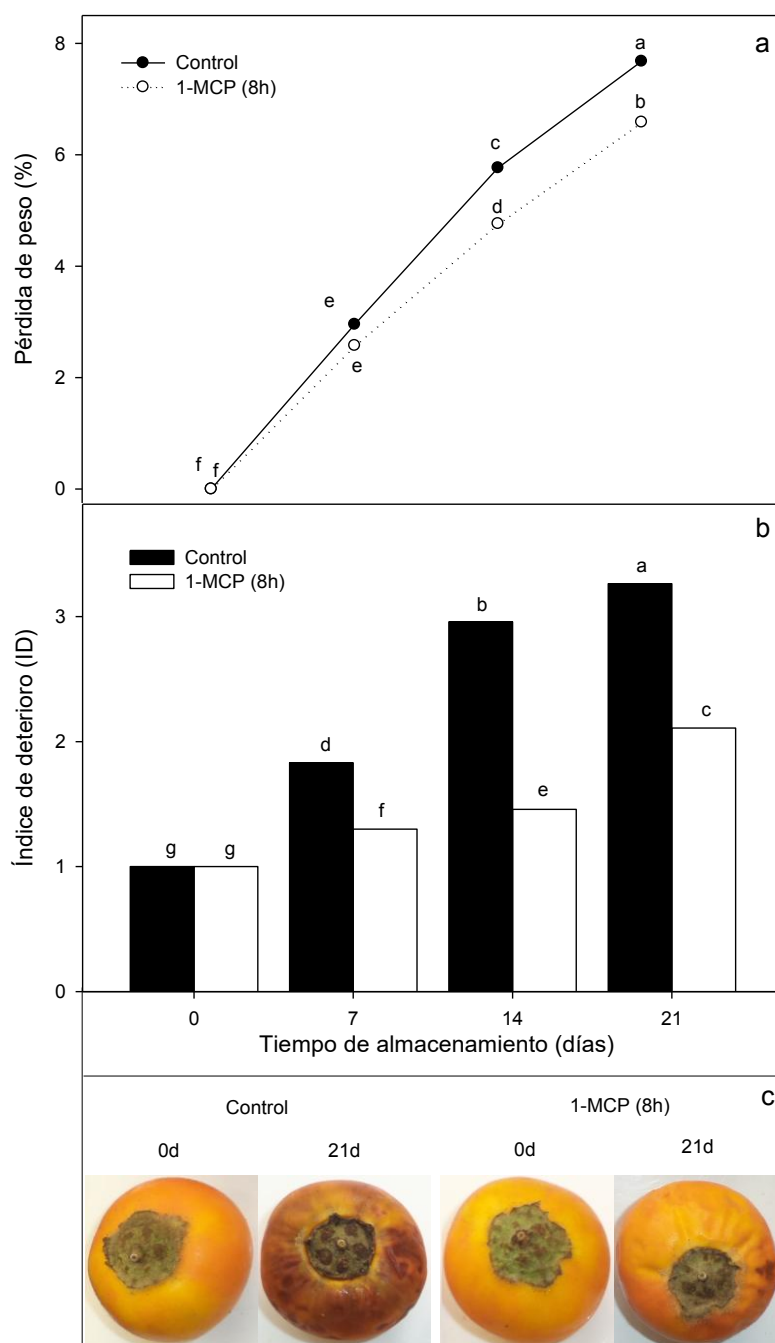


Figura III.2 (a) Pérdida de peso, (b) índice de deterioro y (c) apariencia de frutos de naranjilla control y tratados con 1-MCP (0,5 μ L/L - 8h) almacenados a 4°C durante 21 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$

La eficacia del tratamiento con 1-MCP para reducir las pérdidas de peso y mantener la calidad visual de los productos frutihortícolas han sido reportados en productos como tomate expuesto durante 24 h a una concentración de 0,5 $\mu\text{L/L}$ de 1-MCP (Guillén et al., 2007), berenjena tratada con 1 $\mu\text{L/L}$ durante 12 h (Massolo et al., 2011), aguacate tratado con 625 ppb durante 24 h (Dogan et al., 2017), entre otros. Según explican Dong et al. (2002) y Watkins (2006), la efectividad del tratamiento con 1-MCP se ve influenciado por el cultivar, el grado de madurez y el tiempo y forma de aplicación (inmediatamente después de la cosecha o durante el almacenamiento). Todas estas condiciones deben ser cuidadosamente seleccionadas debido a que el etileno es un regulador de crecimiento y afecta procesos de maduración y senescencia. Por ello, al emplear 1-MCP e inhibir la acción del etileno diversas características de calidad de cada producto vegetal se pueden ver perjudicadas o beneficiadas.

III.2.2. Producción de etileno, tasa de respiración (TR) y firmeza

En la **Tabla III.2** se muestra la variación de la producción de etileno, la TR y la firmeza durante el almacenamiento refrigerado por efecto de la exposición de la naranjilla al 1-MCP.

La exposición al 1-MCP produjo un ligero incremento en la concentración de etileno respecto a los controles en el día 0, manteniendo esta diferencia a lo largo del almacenamiento, excepto el día 7 y 14. Frutos tratados y controles presentaron el mayor valor (pico de producción de etileno) en el día 14 a partir del cual se observó una disminución alcanzando en el día 21 valores superiores al inicio del experimento. La respuesta de los productos frutihortícolas ante la producción de etileno es variada. Ananá tratada con 1-MCP mostró resultados similares a los encontrados en el presente estudio (Selvarajah et al., 2001), en contraste al efecto producido por el 1-MCP en banana, palta, jujube y caqui, productos en los que el tratamiento con 1-MCP disminuyó la producción de etileno (Pongprasert et al., 2014; Feng et al., 2000; Zhang et al., 2012; Luo, 2007). Por otro lado, algunos trabajos realizados en bananas señalan la menor producción de etileno en tiempos cortos de almacenamiento en frutos tratados y un posterior incremento en el almacenamiento prolongado (Zhu et al., 2015; Pongprasert et al., 2014; Jiang et al., 2004). La producción de etileno no siempre es inhibida por el 1-MCP y la persistencia de la inhibición puede ser variable. Hay reportes que muestran que el tratamiento con 1-MCP parece no afectar las vías de síntesis de etileno tanto en productos frutihortícolas con alta producción de etileno como aguacate y banana como en aquellos con baja producción de etileno como ananá (Watkins, 2006). Golding et al. (1999) proponen que el 1-MCP podría estar bloqueando la normal regulación feedback de la producción de etileno y que presumiblemente se incremente la transcripción de la ACC sintasa o se suprima la vía en la que el ACC se convierte en MACC, conduciendo a una biosíntesis de etileno.

Como se ha mencionado anteriormente, el 1-MCP tiene una fuerte habilidad competitiva con los receptores de etileno, retrasando la biosíntesis autoregulada, y disminuye la tasa de respiración en frutos climatéricos. En el presente estudio, la TR en los frutos control y tratados presentó un fuerte aumento a lo largo del almacenamiento alcanzando en el día 21 valores 88 % superiores al día inicial (día 0). El tratamiento con 1-MCP produjo una reducción del 27 % en la TR respecto a los controles durante todo el periodo de almacenamiento. Los frutos control y tratados no presentaron un máximo en la respiración similar a lo reportado por Manenoi et al. (2007), sino más bien un continuo incremento. La disminución de la TR por efecto del 1-MCP se ha comprobado en papaya (Manenoi et al., 2007), tomate (Guillén et al., 2006), caqui (Luo, 2007) y banana (Zhu et al., 2015; Pongprasert et al., 2014). La reducción de la TR podría estar relacionada a: i) la supresión en la producción de etileno (Razzaq et al., 2015), hecho que no se verifica en estos resultados ya que la producción de etileno es mayor en frutos tratados; o bien ii) a un menor avance del deterioro de los frutos tratados (Rodoni et al., 2016) que si concuerda con lo hallado en el presente trabajo.

Tabla III.2 Producción de etileno, tasa de respiración (TR) y firmeza de frutos de naranjilla control y tratados con 1-MCP (0,5 μ L/L - 8h) almacenados a 4°C durante 21 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$

Muestra		Tiempo de almacenamiento a 4°C (días)				LSD Fisher
		0	7	14	21	
Etileno (μ L/kg h)	Control	2,20 \pm 0,18 ^{de}	2,14 \pm 0,32 ^e	3,98 \pm 0,33 ^a	2,39 \pm 0,19 ^{cd}	0,24
	1-MCP (8h)	2,47 \pm 0,15 ^{cb}	2,02 \pm 0,43 ^e	4,09 \pm 0,45 ^a	2,70 \pm 0,16 ^b	
TR (mg CO₂/kg h)	Control	8,19 \pm 1,60 ^f	19,28 \pm 1,45 ^e	53,96 \pm 4,81 ^b	67,61 \pm 7,11 ^a	5,14
	1-MCP (8h)	6,09 \pm 1,29 ^f	6,61 \pm 2,06 ^f	28,38 \pm 8,21 ^d	48,11 \pm 7,35 ^c	
Firmeza (N)	Control	7,22 \pm 1,33 ^{bc}	7,85 \pm 4,30 ^{ab}	5,33 \pm 1,18 ^{de}	4,42 \pm 1,35 ^e	1,55
	1-MCP (8h)	7,80 \pm 1,70 ^{ab}	8,51 \pm 1,67 ^{ab}	8,86 \pm 2,42 ^a	6,07 \pm 0,72 ^{cd}	

Por otro lado, los frutos tratados mostraron mayor firmeza que los controles durante todo el almacenamiento. La firmeza en los frutos control se mantuvo constante hasta el día 7 (7,85 N) y disminuyó hasta el día 21 (4,42 N). Por el contrario, los frutos tratados mantuvieron la firmeza una semana más que los controles llegando hasta el día 14 (8.86 N) para luego disminuir en menor medida al día 21 (6,07 N). El tratamiento con 1-MCP tuvo un efecto positivo en el mantenimiento de la firmeza de la fruta, similar a los efectos producidos en melón amargo (Han et al., 2015), banana (Zhu et al., 2015), mango (Razzaq et al., 2015), palta (Woolf et al., 2005), manzana y albaricoque (Poyesh et al., 2017), entre otros. Ha sido reportado que la pérdida de firmeza en la poscosecha es, entre otros factores,

dependiente del etileno y que se debe a cambios en la textura que involucran reacciones de desesterificación y depolimerización de paredes celulares por acción de diferentes enzimas (Razzaq et al., 2015; Singh et al., 2013). El retraso en la pérdida de firmeza hallado en las naranjillas tratadas estaría indicando que ha sido afectada la actividad de dichas enzimas de pared celular. Mayores estudios serían requeridos relacionados a actividades enzimáticas de exo- y endo- poligalacturonasas, pectato liasas, pectin metilesterasas, β -galactosidasas en naranjilla tratada con 1-MCP. Pero más allá de eso, estos ensayos pondrían en evidencia que la naranjilla es sensible a las bajas concentraciones del propio etileno producido por la fruta y que potenciaría el avance del daño por frío y ablandamiento, hechos que son reducidos por el tratamiento con 1-MCP.

III.2.3. pH, acidez total titulable, sólidos solubles y *ratio*

Los cambios en acidez y azúcares han sido evaluados con el fin de analizar si se registraron modificaciones en los atributos relacionados al sabor de naranjilla. Los cambios en el pH, acidez y contenido de sólidos solubles en frutos tratados con 1-MCP varía según el cultivar, las condiciones de aplicación del tratamiento y el método de almacenamiento (Blankenship y Dole, 2003). Los frutos tratados, en general, presentaron un valor de pH ligeramente menor, valores de SS variables y mayor AT que los frutos control (**Tabla III.3**).

Tabla III.3 pH, sólidos solubles (SS), acidez total titulable (AT) y relación SS/AT (*ratio*) en frutos de naranjilla control y tratados con 1-MCP (0,5 μ L/L - 8h) almacenados a 4°C durante 21 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$

	Muestra	Tiempo de almacenamiento a 4°C (días)				LSD Fisher
		0	7	14	21	
pH	Control	3,35 \pm 0,04 ^b	3,35 \pm 0,03 ^a	3,27 \pm 0,04 ^c	3,20 \pm 0,03 ^{ef}	0,03
	1-MCP (8h)	3,24 \pm 0,02 ^d	3,23 \pm 0,01 ^{de}	3,18 \pm 0,04 ^f	3,25 \pm 0,08 ^{cd}	
SS	Control	4,2 \pm 0,2 ^c	5,0 \pm 0,6 ^b	3,5 \pm 0,5 ^b	3,0 \pm 0,1 ^d	0,28
	1-MCP (8h)	3,3 \pm 0,1 ^d	4,4 \pm 0,1 ^b	5,4 \pm 0,1 ^a	2,7 \pm 0,2 ^d	
AT	Control	2,5 \pm 0,0 ^d	2,5 \pm 0,1 ^d	3,0 \pm 0,5 ^c	3,9 \pm 0,9 ^b	0,37
	1-MCP (8h)	2,5 \pm 0,1 ^d	2,7 \pm 0,2 ^{cd}	3,7 \pm 0,5 ^b	4,7 \pm 0,9 ^a	
Ratio	Control	1,6 \pm 0,1 ^{ab}	1,8 \pm 0,2 ^a	1,5 \pm 0,4 ^{bc}	0,8 \pm 0,1 ^e	0,17
	1-MCP (8h)	1,3 \pm 0,1 ^d	1,7 \pm 0,2 ^{ab}	1,4 \pm 0,2 ^{cd}	0,7 \pm 0,1 ^e	

AT = acidez total titulable (% ác. cítrico); SS = sólidos solubles (°Brix)

El pH de la naranjilla mostró pocos cambios durante el almacenamiento. Al realizar una comparación entre los valores iniciales (día 0) con los finales (día 21), se produjo una ligera disminución en los frutos

controles mientras que el pH se mantuvo estable en los frutos tratados. El contenido de SS de los frutos control se incrementó hasta el día 7 en los frutos control y hasta el día 14 en los frutos tratados; posteriormente se produjo una disminución alcanzando al final del almacenamiento valores 18 y 28 % menores a los iniciales (día 0) para los frutos control y tratados, respectivamente. Un comportamiento similar fue observado en durazno (Liu et al., 2015) y ciruela (Khan et al., 2009). En tanto que la AT aumentó paulatinamente a lo largo del almacenamiento tanto en frutos controles y tratados; en el día 21 la AT mostró valores superiores al día 0 en 35 % para los frutos control y 46 % para los tratados. Resultados similares han sido reportados en lima (Jomori et al., 2003). Según explican Blankenship y Dole (2003), la aplicación de 1-MCP puede o no afectar la AT, por ejemplo, en albaricoque y naranjas la AT no se vio afectada por el tratamiento mientras que en peras (Chen et al., 2015) y guayabas (Iqbal et al., 2018) produjo mayor AT respecto a los frutos sin tratamiento.

El valor del *ratio* es un indicador de sabor del fruto y su jugo, mostrando la relación entre el contenido de sólidos solubles y el nivel de ácidos (Tellez, et al., 1999). Debido a la variación en el contenido de SS y AT, la relación SS/AT (*ratio*) de la naranjilla no mostró cambios significativos en frutos tratados y controles hasta el día 14, a partir de este tiempo disminuyó en ambas muestras mostrando valores menores entre 45 a 50 % en relación al inicio del almacenamiento (día 0).

Numerosos trabajos de investigación indican un comportamiento poscosecha similar en cuanto a la disminución de AT y aumento de SS y *ratio* durante la poscosecha, mientras otros contrastan estos resultados, tal como lo encontrado en el presente trabajo de investigación. Según proponen Parra y Fischer (2013), estos comportamientos disímiles probablemente estarían influenciados por las características varietales, condiciones agroecológicas en las que se desarrolló el fruto y las condiciones de almacenamiento y tratamiento poscosecha. Más allá de ello, los resultados hallados aquí muestran que la inhibición de la acción del etileno retrasaría en cierto modo el avance de la madurez de la naranjilla, incluso en estados ya avanzados como los empleados en el presente trabajo de tesis.

III.2.4. Color y área de manchas

El color de productos frutihortícolas contribuye de forma importante a la evaluación de la calidad, los consumidores asocian el color con el sabor, inocuidad, tiempo de almacenamiento, nutrición y nivel de satisfacción debido a que está relacionado con evaluaciones sensoriales y fisicoquímicas de calidad de los alimentos (Kang et al., 2008). Como parte de los análisis de color de la naranjilla tratada con 1-MCP se evaluaron los cambios de los parámetros de color Hue (tinte básico de color), L* (luminosidad), y Cr* (saturación o viveza del color), según se indica en la **Tabla III.4**.

Los valores de Hue muestran el color naranja característico de la naranjilla. El ángulo Hue declinó durante el almacenamiento, se encontró una reducción de 10 y 3 unidades en frutos control y tratados, respectivamente. En tanto que, la luminosidad (L^*) y la saturación de color (Cr^*) de los frutos tratados se mantuvieron constante ($L^* \cong 61$ y $Cr^* \cong 39$) durante el período de almacenamiento, mientras que en los controles los valores de L^* y Cr^* se redujeron 19 y 13 unidades, respectivamente, indicando oscurecimiento y palidez del color naranja particularmente en el día 21. El tratamiento con 1-MCP contribuyó a mantener mejores características de color de la naranjilla, al final del almacenamiento los frutos tratados presentaron valores de Hue, L^* y Cr^* 25, 35 y 34 % mayores a los controles.

Tabla III.4 Angulo Hue ($^\circ$), luminosidad (L^*), cromaticidad (Cr^*) y área de manchas en frutos de naranjilla control y tratados con 1-MCP (0,5 μ L/L - 8h) almacenados a 4°C durante 21 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$

	Muestra	Tiempo de almacenamiento a 4°C (días)				Fisher
		0	7	14	21	
Hue ($^\circ$)	Control	65.1 \pm 7.7 ^{abc}	66.5 \pm 7.5 ^{abc}	61.7 \pm 5.5 ^{bcd}	55.9 \pm 5.5 ^{cd}	14,0
	1-MCP (8h)	76.3 \pm 7.5 ^a	73.1 \pm 4.9 ^{abc}	50.3 \pm 7.6 ^d	73.6 \pm 5.7 ^{ab}	
L^*	Control	59,8 \pm 3,3 ^{abc}	58,9 \pm 2,8 ^{bc}	54,8 \pm 5,2 ^d	40,6 \pm 7,1 ^e	2,94
	1-MCP (8h)	62,0 \pm 4,4 ^a	60,8 \pm 2,3 ^{abc}	58,4 \pm 3,3 ^c	61,8 \pm 3,5 ^{ab}	
Cr^*	Control	39,5 \pm 3,5 ^{ab}	39,6 \pm 3,4 ^{ab}	37,9 \pm 3,5 ^b	26,8 \pm 6,1 ^c	2,64
	1-MCP (8h)	39,3 \pm 3,3 ^{ab}	39,5 \pm 1,7 ^a	38,3 \pm 3,8 ^b	40,3 \pm 3,1 ^{ab}	
Área manchas	Control	1,0 \pm 0,0 ^e	2,9 \pm 1,1 ^{bc}	3,5 \pm 0,2 ^{ab}	3,9 \pm 0,1 ^a	0,59
	1-MCP (8h)	1,0 \pm 0,0 ^e	1,5 \pm 0,7 ^e	2,3 \pm 0,1 ^d	2,6 \pm 0,1 ^{cd}	

Al igual que en el presente estudio, el tratamiento con 1-MCP retrasó los cambios de color durante el almacenamiento ciruela (Khan et al., 2009), frutilla (Jiang et al., 2001) y uvilla (Balaguera-López et al., 2015), entre otros, y según explican Blankenship y Dole (2003) estos resultados estarían asociados al retraso en los procesos de síntesis o degradación de pigmentos como clorofila, antocianinas y carotenoides como efecto del tratamiento con 1-MCP, indicando la dependencia de los mismos con la acción del etileno.

Uno de los principales defectos de calidad de la naranjilla es la aparición de manchas superficiales ante la exposición a temperaturas de daño por frío, estas se evaluaron según el porcentaje de superficie del fruto con punteado circular o laminar pardo oscuro. Según la escala de medición utilizada, los frutos control presentaron incipientes manchas en el día 7, mientras que en los tratados fue en el día 14. Para el final del almacenamiento los frutos control mostraron un desarrollo de manchas moderado a muy

desarrollado (3,9), en tanto que en los frutos tratados correspondió a un desarrollo ligero a moderado (2,6). La aplicación del 1-MCP retrasó el desarrollo de manchas pardas en la superficie del fruto, efecto que está relacionado con el menor oscurecimiento del color y menor avance del deterioro del fruto permitiendo mantener la calidad de la naranjilla por más tiempo. Estos resultados sugieren que la inhibición de la acción del etileno resultaría clave para prevenir el avance de las manchas pardas de naranjilla como síntoma central del daño por frío.

III.2.5. Análisis microbiológicos

Los trabajos de investigación sobre la aplicación del 1-MCP como tratamiento poscosecha se ha enfocado principalmente en su efecto sobre procesos de maduración y senescencia que incluyen respuestas fisiológicas como la producción de etileno y tasa respiratoria, degradación de pigmentos y cambios de color e índices de calidad como acidez total, contenido de sólidos solubles, pérdida de peso, firmeza; no obstante son escasos los trabajos que evalúan al 1-MCP sobre la calidad microbiológica de productos frutihortícolas.

Al inicio del experimento los frutos control presentaron una población inicial de 4 Log UFC/g de aerobios mesófilos, mohos y levaduras (**Figura III.3**). La exposición de los frutos a 0,5 µL/L 1-MCP produjo, al inicio, una reducción de 0,7 unidades Log de mohos y levaduras en tanto que la población de aerobios mesófilos fue mayor (0,5 unidades logarítmicas) que en los controles. Durante el almacenamiento, la población de los dos grupos de microorganismos se incrementó gradualmente en las muestras controles y tratadas, siendo menor en estos últimos. La población de aerobios mesófilos se incrementó en 2,4 y 1,1 unidades Log para frutos control y tratados, respectivamente. En el día 21, los frutos alcanzaron una población 6,5 log UFC/g (controles) y 5,9 log UFC/g (tratados) de aerobios mesófilos totales. El mayor efecto en el control del crecimiento microbiano se observó sobre la población de mohos y levaduras. En los frutos control esta población se incrementó 4,1 unidades log y en los frutos tratados este aumento fue de sólo 1,1 unidades log presentando una población final de 8,1 log UFC/g (controles) y 5,1 log UFC/g (tratados).

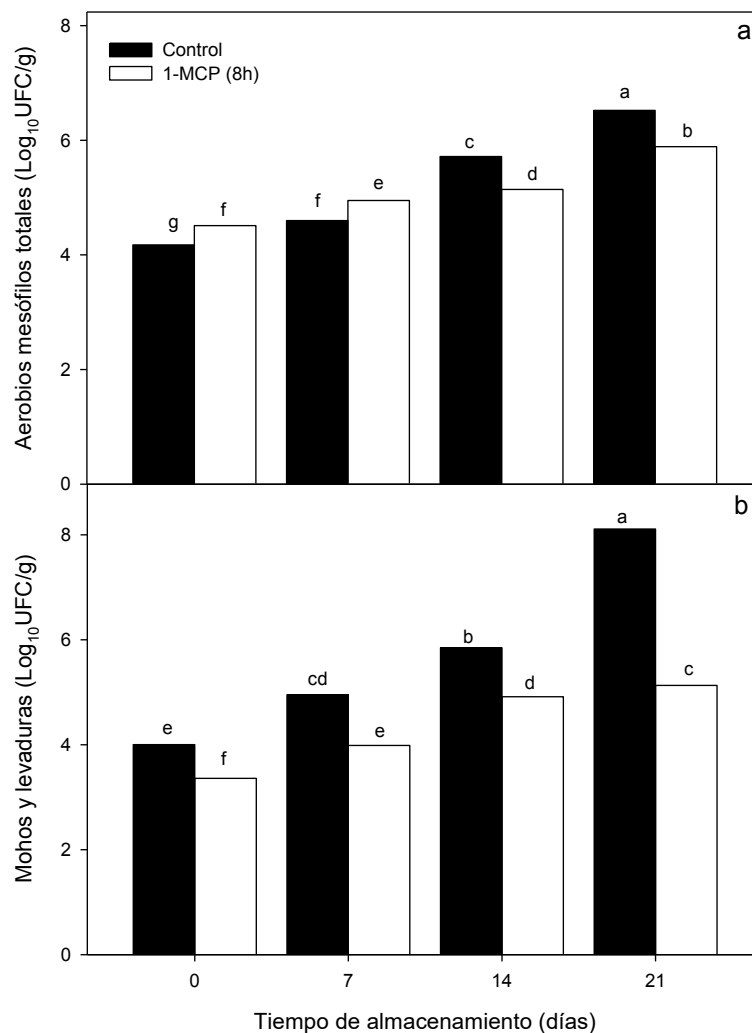


Figura III.3 Población de (a) aerobios mesófilos totales y (b) mohos y levaduras en frutos de naranjilla control y tratados con 1-MCP (0,5 µL/L - 8h) almacenados a 4°C durante 21 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$

Se ha demostrado que el 1-MCP es efectivo para el control de desórdenes y enfermedades poscosecha en especies específicas en tanto que en otras induce mayor severidad (Blankenship y Dole, 2003). Por ejemplo, se ha reportado que el 1-MCP no tiene efecto sobre el crecimiento de *Penicillium digitatum* en uvas (Mullins et al., 2000) y en naranjas (Porat et al., 1999), al igual que *Alternaria alternata* en tomate (Estiarte et al., 2016), y acelera la pudrición por hongos en frutillas (Ku et al., 1999). Además, Oz y Ulukanki (2013) indican que el 1-MCP no es útil para controlar el crecimiento de microorganismos (aerobios mesófilos totales, psicrófilos, mohos y levaduras) en moras (*Morus alba*). En contraste, otros

estudios que demuestran un efecto positivo del 1-MCP para el control del desarrollo de *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea* y *Fusarium spp.* en tomate (Su y Gubler, 2012) y *Penicillium expansum* en jujube (Zhang et al., 2012).

Los resultados son diversos y contradictorios, el 1-MCP no está considerada dentro de las tecnologías para el control del crecimiento microbiano en frutas y vegetales (Barth et al., 2010), por lo tanto, existe poca información disponible sobre el efecto del 1-MCP y la inducción de la resistencia al decaimiento de frutas y vegetales (Zhang et al., 2012). Una explicación podría ser que la inhibición de la acción del etileno previene el ablandamiento del fruto y con ello el ataque de microorganismos se desfavorece (Massolo et al., 2011). Sin embargo, también Xu et al., (2017) ha reportado que el uso de etileno exógeno como tratamiento poscosecha puede promover la germinación de esporas e incrementar el decaimiento en frutas, debido a esto, el 1-MCP y probado antagonista de etileno, puede prevenir la producción de etileno o evitar que éste se una al receptor de los mohos contaminantes suprimiendo así su crecimiento o inhibiendo su desarrollo en la fruta. Además, estos autores demuestran que, como parte de la resistencia del fruto al desarrollo de microorganismos, el 1-MCP induce la acumulación de especies reactivas de oxígeno en las esporas y micelios de mohos filamentosos contaminantes y suprimir así la germinación de las esporas y crecimiento del micelio. Considerando estos importantes hallazgos, es importante profundizar la investigación sobre los mecanismos del 1-MCP contra el patógeno y la respuesta del fruto frente al estrés biótico y abiótico generado tanto por el 1-MCP y los microorganismos, respectivamente. Es sabido que como parte de las respuestas de los tejidos al estrés se generan especies reactivas de oxígeno que son controladas por sistemas antioxidantes de tipo enzimático y no enzimático (Apel y Hirt, 2004).

III.2.6. Capacidad antioxidante, compuestos fenólicos y carotenoides totales

El 1-MCP influye en la maduración y mejora la calidad poscosecha de frutos climatéricos, afecta la respiración y producción de etileno, alivia desórdenes fisiológicos asociados al etileno (Watkins, 2006). No obstante, los estudios enfocados en el efecto del 1-MCP sobre los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante presentan resultados inconsistentes (Gago et al., 2015), por lo que es necesario que estos sean evaluados en diferentes matrices vegetales.

Como se muestra en la **Figura III.4a**, no hubo diferencias estadísticas entre el contenido de FT entre frutos control y tratados y se registró una disminución paulatina durante los 21 días de almacenamiento refrigerado. Los frutos control presentaron una pérdida de FT del 28% respecto al valor inicial, en tanto que el tratamiento con 1-MCP permitió reducir este valor a 21%; sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre las muestras.

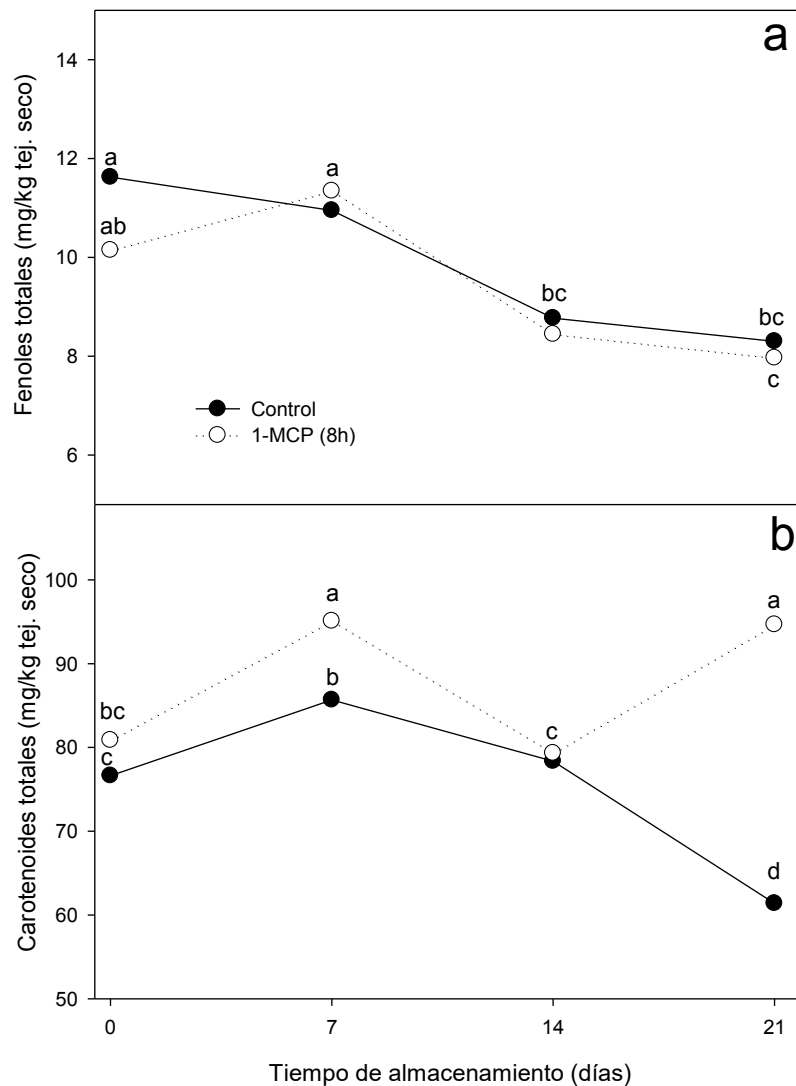


Figura III.4 Contenido de (a) Fenoles totales y (b) carotenoides totales en frutos de naranjilla control y tratados con 1-MCP (0,5 μ L/L - 8h) almacenados a 4°C durante 21 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$

Estos resultados coinciden con los encontrados en duraznos, uvas y manzana (Wu et al., 2018; Bellicontro et al., 2006; Shaman et al., 2003) tratadas con 1-MCP y almacenados en refrigeración. En estas matrices se ha observado que el contenido de FT generalmente se incrementa al inicio del almacenamiento y posteriormente se mantiene constante o declina lentamente. Por el contrario, diversos trabajos de investigación muestran que el tratamiento con 1-MCP produce un incremento de FT durante el almacenamiento, tal es el caso de uvillas, kiwi y manzanas, entre otros (Valdenegro et al., 2012; Park et al., 2015; Gago et al., 2015) y en la mayoría de los casos, la variación del contenido de FT

exhibe un patrón similar a la producción de etileno durante el almacenamiento. Es conocida claramente la relación entre el etileno y la actividad enzimática de fenilalanina amonioliasa-PAL (involucrada en la síntesis la ruta de síntesis de compuestos fenólicos), por lo que resulta razonable sugerir que, al no haber existido un claro efecto del 1-MCP sobre la producción de etileno en la naranjilla, tampoco se vio afectada la síntesis de compuestos fenólicos durante el almacenamiento refrigerado.

Por otro lado, según se observa en la **Figura III.4b**, los frutos tratados presentaron un contenido de CT significativamente mayor que los controles a lo largo del almacenamiento (excepto el día 14). Tanto en frutos tratados como controles los CT se incrementaron en el día 7, mostrando los mayores valores en ambas muestras. A partir de este tiempo los CT disminuyeron en los frutos controles mostrando valores 19 % menores al día 0, en contraste a lo ocurrido en los frutos tratados en los que se observó un incremento del 15 % respecto al inicio del experimento. Al igual que en el presente trabajo, la acumulación de CT se ha visto favorecida por efecto del 1-MCP en la fruta de pan (*Durio zibethinus*), mientras que su contenido no se vio afectado en ciruelas y pitahaya amarilla (Wisutiamonkul et al., 2015; Khan et al., 2009; Deaquiz et al., 2014), en tanto que el tratamiento redujo la acumulación de CT en papaya (Fabi et al., 2007). La variación de CT durante la poscosecha estaría regulada por etileno endógeno a través de la modulación de la expresión de genes relacionados con la biosíntesis de carotenoides (Rodrigo y Zacarías, 2007). Cabe mencionar que los carotenoides son compuestos responsables de la coloración amarilla, naranja y roja (Rosa et al., 2016), por lo tanto, la acumulación de β -caroteno podría relacionarse con las mejores características de color que presentaron las naranjillas tratadas con 1-MCP.

Por otro lado, en los últimos años ha aumentado el interés por la determinación de la concentración de compuestos con actividad antioxidante en frutas y vegetales debido a los efectos benéficos en la salud humana. Las frutas y vegetales son fuentes de antioxidantes hidrofílicos como vitamina C y la mayoría de compuestos fenólicos, y antioxidantes hidrofóbicos como vitamina E y carotenoides (Watanabe et al., 2016). La literatura científica comúnmente utiliza el término Capacidad Antioxidante, la cual determina la habilidad de una matriz para actuar como antioxidante y de esta manera neutralizar las especies reactivas del oxígeno y suprimir las reacciones que los provocan, así como también su capacidad reductora redox, entre otras (Harasym y Oledzki, 2014). En el presente trabajo de investigación se evaluó el efecto del 1-MCP sobre la capacidad antioxidante (expresada como equivalentes de Trolox, TEAC) de la naranjilla durante el almacenamiento a través de tres ensayos indirectos: el primero, 2,2-azinobis (3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS), el segundo 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) que se basan tanto en la transferencia de átomos de hidrógeno como de electrones para analizar

la capacidad antioxidante de los compuestos presentes en el extracto. El tercer método, FRAP, se basa en la capacidad de transferencia de electrones y específicamente en la capacidad reductora del hierro. Los frutos control presentaron niveles TEAC mayores para las técnicas DPPH y FRAP, y similares para la técnica ABTS que los frutos tratados en el día 0 y en todos ellos se observó una reducción gradual durante el almacenamiento alcanzando en el día 21 menores valores a los iniciales. En los frutos tratados, el valor de TEAC se incrementó en el día 7 (superando la TEAC de los controles, con DPPH y FRAP), a partir del cual declinó hasta el día 21, manteniendo valores superiores a los controles a lo largo del almacenamiento, siendo más marcada la diferencia empleando FRAP que DPPH, y similares con ABTS. Para los controles se determinó una reducción del 21, 31 y 61 %, según los métodos DPPH (**Figura III.5a**), ABTS (**Figura III.5b**) y FRAP (**Figura III.5c**), respectivamente. Esta disminución fue atenuada por el tratamiento con 1-MCP; respecto al día 0, la TEAC determinada por DPPH no varió y la reducción para ABTS y FRAP fue de 23 y 40 %, respectivamente.

Se observó un patrón de comportamiento similar entre FT y TEAC en la naranjilla. Se ha demostrado que existe una alta correlación entre el contenido de FT y la capacidad antioxidante medida por DPPH y ABTS (Fawbush et al., 2009; Jiang et al., 2014), que estaría relacionado con la habilidad para el secuestro de radicales libres celulares que son normalmente generados durante procesos de respiración (Hassan y Mahfouz, 2012). Los compuestos fenólicos pueden estabilizar los radicales libres siguiendo ambos mecanismos: el de transferencia de protones y de electrones (Londoño-Londoño, 2012). Los resultados encontrados en este trabajo muestran que el 1-MCP estimuló ligeramente la capacidad de secuestro de radicales DPPH y ABTS, y fue más marcado en retener el poder reductor evidenciado por FRAP, coincidentemente con los resultados de otros reportes (Jiang et al., 2014; Park et al., 2015; Gago et al., 2015; Soe Win et al., 2015; Li et al., 2018; Liu et al., 2018;) respecto a frutos sin tratamiento. De modo que en la naranjilla tratada con 1-MCP se estaría previniendo la disminución de otros compuestos con buen potencial reductor (mecanismo de transferencia de electrones) y de esta manera regularían de mejor modo el estado redox del tejido. Esto sería esencial para mejorar el sistema de defensa del fruto y asegurar la homeostasia celular (Wu et al., 2018) y en consecuencia retrasar la pérdida de calidad del fruto en el almacenamiento debido principalmente al daño por frío.

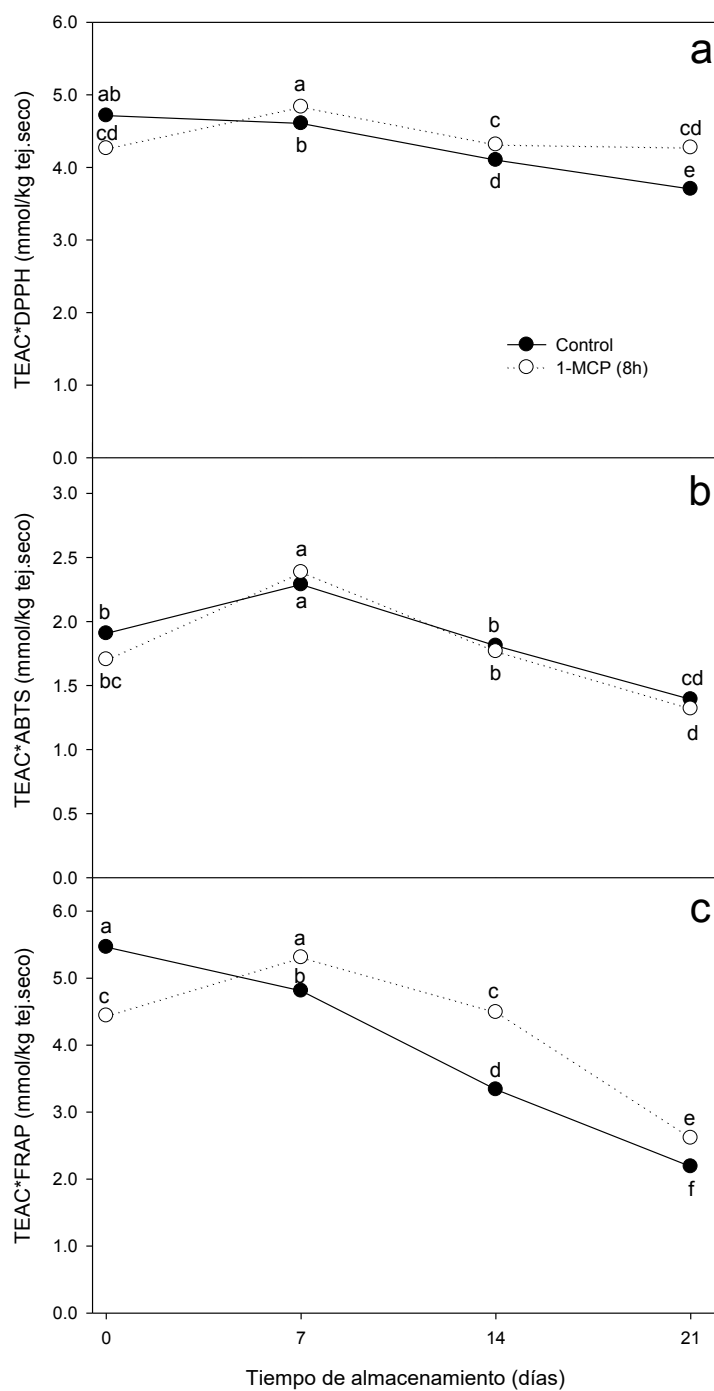


Figura III.5 Capacidad antioxidante determinada por los métodos (a) DPPH, (b) ABTS y (c) FRAP en frutos de naranjilla control y tratados con 1-MCP (0,5 μ L/L - 8h) almacenados a 4°C durante 21 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$

III.3. Análisis de compuestos fenólicos por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

La naranja destaca por un contenido de compuestos fenólicos similar a frutos de la pasión, tomate y mango (Vasco et al., 2008; Gancel et al., 2008). El creciente interés en el estudio de los compuestos fenólicos se debe principalmente a su potencial antioxidante que incluye mecanismos como secuestro y neutralización de radicales libres y quelación de metales (Wu et al., 2018).

Extractos metanólicos de muestras liofilizadas de naranja fueron utilizados para realizar un perfil fenólico y evaluar el efecto del 1-MCP sobre los mismos a lo largo del almacenamiento. En la **Figura III.6** se muestran los cromatogramas de HPLC-DAD de frutos control y tratados correspondientes al día 0. Con el fin de obtener un indicio de los posibles compuestos fenólicos presentes en la naranja se realizó una comparación bibliográfica con el perfil de picos cromatográficos con el reportado por Gancel et al. (2008), tal como se detalló en el Capítulo II, y se muestra en la **Tabla III.5**.

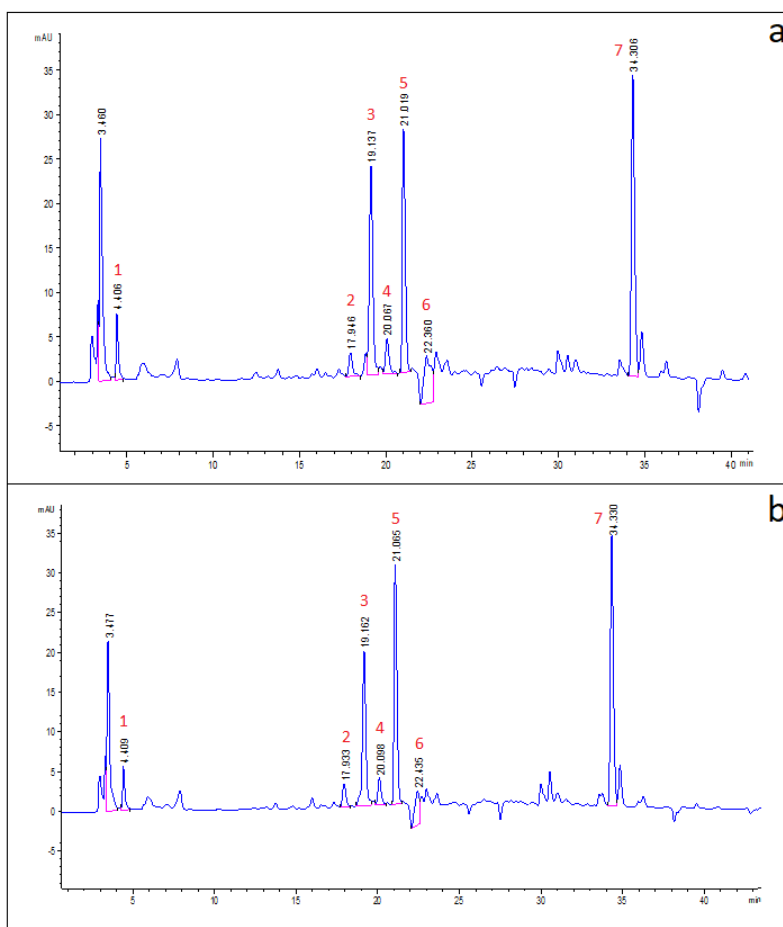


Figura III.6 Cromatograma HPLC-DAD de extractos metanólicos de muestras de naranja entera (a) control y (b) tratados con 1-MCP (0,5 $\mu\text{L/L}$ - 8h) almacenados a 4°C durante 21 días correspondiente al inicio del experimento (día 0)

Tabla III.5 Compuestos fenólicos por HPLC-DAD de extracto de naranjilla (metanol CH₃OH/H₂O al 70%)

No.	t _R (*) (min)	Comparación bibliográfica	Referencia bibliográfica	Mayor conc.
1	4,4	N.I.(**)		
2	17,9	Hexósido del N ¹ ,N ⁴ o N ⁴ ,N ⁶ -bis(dihidrocafeoil) espermidina	a	
3	19,1	Ácido 5-O-cafeoilquínico (ácido clorogénico)	a,b	✓
4	20,1	Ácido 4-O-cafeoilquínico (ácido criptoclorogénico)	a	
5	21,1	N ¹ ,N ⁴ or N ⁴ ,N ⁸ -bis(dihidrocafeoil) espermidina	a,b	✓
6	22,4	Dihexósido de kaempferol		
7	34,3	N ¹ ,N ⁴ ,N ⁸ -tris(dihidrocafeoil) espermidina	a,b	✓

(*) : Tiempo de retención. (**): No identificado.

a: Gancel et. al. (2008); b: Forero et. al. (2016)

Los 7 picos determinados en el cromatograma fueron cuantificados como equivalentes de ácido clorogénico (mg de ácido clorogénico/100 g de muestra seca). Como se puede observar en la **Figura III.7**, los picos 3, 5 y 7 fueron los que mostraron una concentración predominante frente los picos 1, 2, 4 y 6, de menor concentración (**Figura III.8**), constituyendo este grupo aproximadamente un 20 % respecto a la concentración de compuestos predominantes. En concordancia con la cuantificación de FT, al inicio del experimento (día 0) el contenido de los compuestos fenólicos identificados fue mayor en los frutos control que en los tratados, excepto los Picos 7 y 2 (N², N⁴, N⁸-tris-(dihidrocafeoil) espermidina y hexósido de N¹,N⁴ o N⁴,N⁸-bis(dihidrocafeoil) espermidina, respectivamente). Y confirmando el patrón de comportamiento observado en los FT, durante el almacenamiento se produjo una pérdida comprendida entre el 20 al 60 % de todos los compuestos fenólicos tanto en las muestras control como en las tratadas tanto de los compuestos hallados en mayor concentración como en los que se encuentran en bajas concentraciones. En general los frutos tratados presentaron mayor contenido de los compuestos correspondientes a los picos 3, 5 y 7 (compuestos predominantes) y en los picos 2, 4 y 6 (compuestos de menor concentración). El tratamiento con 1-MCP redujo significativamente las pérdidas de los compuestos correspondientes a los picos 2, 4 y 5, respecto a los controles en el día 21.

El comportamiento de los frutos tratados con 1-MCP fue comparable a lo observado con el tratamiento de UV-C (**Capítulo II**). En ambos casos se observó un mayor contenido del pico 5 (dentro del grupo de compuestos mayoritarios) y del pico 2 (dentro del grupo de compuestos minoritarios) durante todo el almacenamiento y del pico 6 (grupo minoritario) sólo al final del almacenamiento, días 14 y 21.

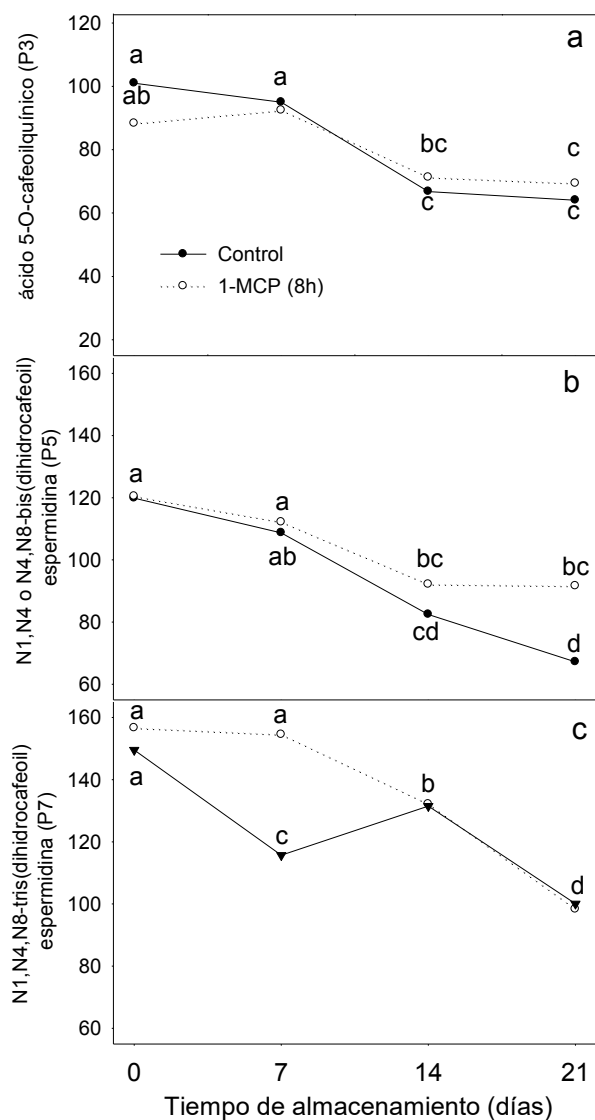


Figura III.7 Variación de la concentración de los picos cromatográficos de mayor concentración (expresados como mg equivalentes de ác. clorogénico/100 g tej. seco): (a) P3, ácido 5-O-cafeoilquínico, (b) P5, N¹,N⁴ o N⁴,N⁸-bis(dihidrocafeoil) espermidina y (c) N¹,N⁴,N⁸-tris(dihidrocafeoil) espermidina . Identificados según Tabla II.3) determinados en el extracto metanólico de naranjilla control (C) y tratada con 1-MCP (0,5 µL/L - 8h) almacenados a 4°C durante 21 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de P < 0,05

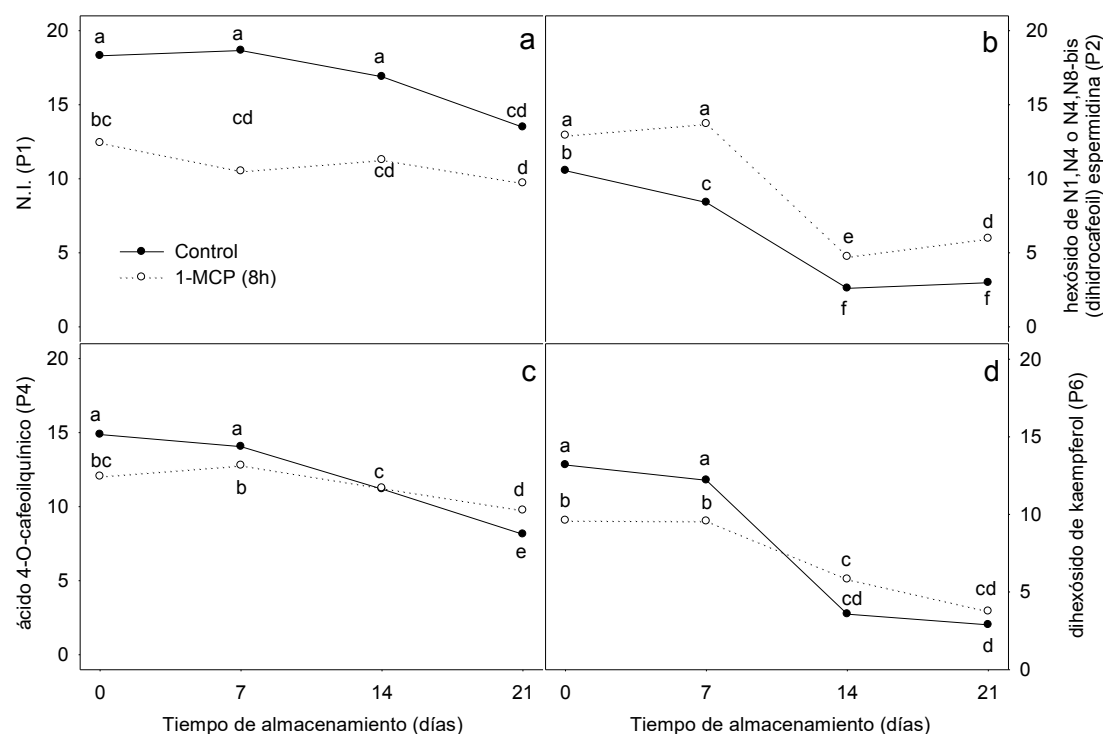


Figura III.8 Variación de la concentración de los picos cromatográficos de menor concentración (expresados como mg equivalentes de ác. clorogénico/100 g tej. seco): (a) P1, No identificado, (b) P2, hexósido de N¹,N⁴ o N⁴,N⁸-bis(dihidrocafeoil) espermidina, (c) P4, ácido 4-O-cafeoilquínico y (d) P6, dihexósido de kaempferol. Identificados según Tabla II.3) determinados en el extracto metanólico de naranjilla control (C) y tratada con 1-MCP (0,5 µL/L - 8h) almacenados a 4°C durante 21 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de P < 0,05

El compuesto fenólico más abundante fue el N¹,N⁴ o N⁴,N⁸-tris(dihidrocafeoil) espermidina, seguido del N¹,N⁴ o N⁴,N⁸-bis(dihidrocafeoil) espermidina y el ácido clorogénico (correspondientes a los picos 7, 5 y 3). Los dos primeros compuestos son derivados de la espermidina y como ya se mencionó han sido descritos como compuestos involucrados en el sabor amargo de la naranjilla y como aminas bioactivas que presentan actividad inhibitoria de la enzima convertidora de angiotensina involucrada en los procesos de regulación de la presión sanguínea, según lo demuestran estudios realizados por Forero et al (2016) y Muñoz (2016) en naranjilla. Por otro lado, el ácido clorogénico (P3) e isómeros como el 4-O-cafeoil quínico (P4) es uno de los compuestos fenólicos más abundantes en las plantas y con alta actividad antioxidante (Muñoz, 2016). Por otro lado, numerosos estudios describen los efectos benéficos del kaempferol (P6) asociado con la reducción del riesgo de enfermedades crónicas, especialmente cáncer (Chen et al., 2013). Estos resultados muestran que el tratamiento con 1-MCP es efectivo no sólo para retrasar el deterioro poscosecha sino también para preservar los compuestos

fenólicos de la naranjilla, por lo que ello podría ser el factor que se potenciaría y permitiría retrasar el avance del daño por frío. También es de destacarse que la naranjilla tratada con 1-MCP sería una fruta con alto potencial tanto para la extracción de compuestos bioactivos como para su uso como ingrediente en el desarrollo de alimentos funcionales.

III.4. Análisis del extracto etanólico de naranjilla por cromatografía gaseosa y espectroscopía de masas (CG-EM)

Se determinó la composición química del extracto etanólico del tejido liofilizado de naranjilla mediante CG-EM. Para la identificación de los picos se utilizó la biblioteca del Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (NIST, 2014) con una coincidencia de los espectros de masas mayor al 95%.

En la **Figura III.9** se muestra el cromatograma CG-EM en el que se identificaron seis compuestos que corresponden a cuatro ácidos grasos mono y poliinsaturados, una vitamina y un derivado del ácido benzoico (**Tabla III.7**). Estos compuestos fueron: ácidos grasos: (pico 1) n-hexadecanoico (ácido palmítico, cadena C16:0), (pico 2) ácido 6-octadecenoico (ácido petroselaidico, cadena C18:1 Δ 6), (pico 3) ácido Z,Z-9,12-octadecadienoico (ácido linoleico, cadena C18:2 Δ 9,12) y el (pico 4) ácido (Z,Z,Z)-9,12,15-octadecatrienoico (ácido linolénico, cadena C18:3 Δ 9,12,15), (pico 5) α -tocoferol (C₂₉H₅₀O₂). En esta oportunidad, a diferencia del **Capítulo II**, se hallaron niveles considerables de (pico 6) monoéster (2-etil hexil) del ácido 1,2 bencendicarboxílico.

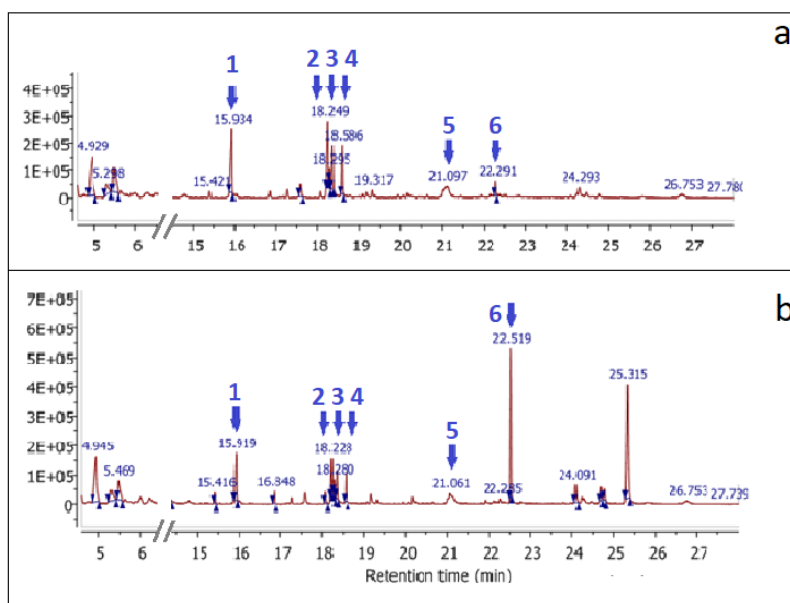


Figura III.9 Cromatograma GC-MS de muestras de naranjilla (a) control y (b) tratada con 1-MCP (0,5 μ L/L - 8h) correspondientes al día 7 de almacenamiento refrigerado (4°C)

Tabla III.6 Identificación de compuestos por CG-EM en naranjilla control y tratada con 1-MCP (0,5 $\mu\text{L/L}$ - 8h) almacenada en refrigeración (4°C) durante 21 días

No. Pico	t_R (*) (min)	Compuesto identificado	Nombre común
1	15,950	Ác. n-Hexadecanoico	Ácido palmítico
2	18,254	Ác. 6-Octadecenoico	Ác. petroselaidico
3	18,342	Ác. (Z,Z)-9,12-Octadecadienoico	Ác. linoleico
4	18,581	Ác. (Z,Z,Z)-9,12,15-Octadecatrienoico	Ác. linolénico
5	21,082	DL- α -Tocoferol	Vitamina E
6	22,519	Ác. mono(2-etilhexil) éster 1,2-benzendicarboxílico	Ftalato de 2-etilhexilo

t_R = tiempo de retención

Se evaluó la variación de la concentración de los compuestos identificados a largo del almacenamiento refrigerado mediante la comparación de las áreas de los picos cromatográficos (**Figura III.10**). Inmediatamente después del tratamiento (1-MCP 0,5 $\mu\text{L/L}$) se observó un incremento en la concentración de todos los compuestos identificados (excepto los picos 5 y 6: α -tocoferol y el monoéster (2-etil hexil)-ácido 1,2 bencendicarboxílico, respectivamente). Durante el almacenamiento, todos los ácidos grasos identificados (n-hexadecanoico, 6-octadecenoico, Z,Z-9,12-octadecadienoico y Z,Z,Z-9,12,15-octadecatrienoico) mostraron los mayores valores al día 7 y luego disminuyeron tanto en frutos control como tratados, siendo esta disminución mucho menos pronunciada en los frutos tratados (excepto para α -tocoferol). En particular, el pico 6 (monoéster (2-etil hexil)-ácido 1,2 bencendicarboxílico) presentó valores detectables en frutos tratados y a los 14 días.

Estos compuestos de naturaleza lipofílica provendrían de las semillas de la naranjilla, principalmente. Al realizar una comparación del efecto del 1-MCP y la radiación UV-C (**CAPÍTULO II**) sobre el contenido de los ácidos grasos identificados se encontró que a tiempos intermedios de almacenamiento (días 7 y 14) los frutos control presentan mayor concentración que los frutos tratados, mientras que en el día 0 (inmediatamente después del tratamiento) y al final del almacenamiento (día 21) en los frutos tratados el contenido de estos ácidos grasos es significativamente mayor. Entre los frutos tratados, aquellos expuestos a la radiación UV-C mostraron mayor contenido de ácido palmítico (pico 1) y ácido 6-octadecenoico (pico 2) y en menor medida el ácido Z,Z-9,12-octadienoico (pico 3) y ácido Z,Z,Z-9,12,15-octatrienoico (pico 4). Sin embargo, aquí, con el tratamiento de 1-MCP se hallaron mayores contenidos de los picos 1, 2 y 4 y menores del 3. A su vez también, a diferencia de los observado en frutos control, los frutos tratados con UV-C no mostraron niveles detectables de picos 5 y 6 (α -tocoferol y monoéster (2-etil hexil)-ácido 1,2 bencendicarboxílico, respectivamente); mientras que los frutos tratados con 1-MCP mostraron niveles apreciables, aunque bajos, hacia el final del almacenamiento.

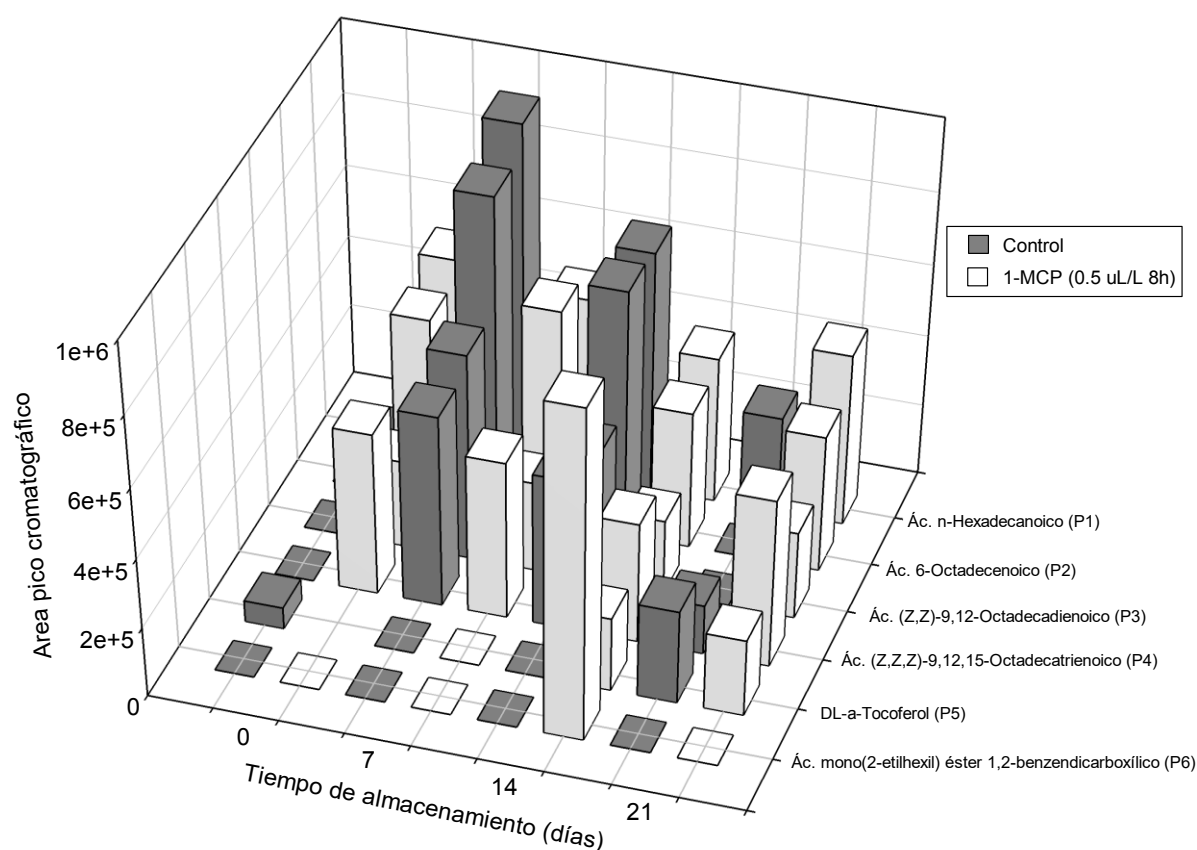


Figura III.10 Variación de la concentración de los picos cromatográficos identificados por CG-EM en naranjilla control y tratada con 1-MCP (0,5 $\mu\text{L/L}$ - 8h) almacenada en refrigeración (4°C) durante 21 días

La importancia de la determinación de los compuestos identificados está dada por sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, capacidad de secuestrar radicales libres, actividad anticancerígena, cardio y hepatoprotectora (Aparna et al., 2012; Erukainure et al., 2017, Foo et al., 2016), así como el tratamiento natural de hiperlipidemia (Zhang y Jiang, 2014; Liaqat et al., 2017). Como se mencionó anteriormente, estos compuestos se han identificado en diversas raíces, hojas, frutos y semillas (Liolios et al., 2008; Zhang et al., 2011). Por otro lado, no se encuentran estudios que reporten la determinación de α -tocoferol (pico 5) en la naranjilla, así como del compuesto monoéster (2-etilhexil)-ácido 1,2 bencendicarboxílico (pico 6), y estos compuestos presentan actividad antihipercolesterolémica y antimicrobiana, respectivamente (Estevam Ribeiro et al., 2018; Signh et al., 2015); y forman parte de la fase oleosa de pulpas y semillas (Parthasarathy et al., 2017).

El empleo de 1-MCP como alternativa tecnológica de poscosecha ha permitido retener compuestos de naturaleza lipofílica en naranjilla durante el almacenamiento refrigerado.

III.5. Análisis de componentes principales (PCA)

Con el fin de conocer las relaciones entre las 20 variables objeto de estudio, el tratamiento poscosecha y el tiempo de almacenamiento, y determinar qué características permiten discriminar la efectividad del 1-MCP como tratamiento poscosecha se realizó el PCA haciendo uso de una matriz de correlación con el tratamiento (muestras control y tratadas con 1-MCP 0,5 $\mu\text{L/L}$ - 8h), los componentes de calidad fisicoquímica, fisiológica, microbiológica y antioxidante de naranjilla almacenada en refrigeración durante 21 días. La **Tabla III.7** muestra la varianza total de cada variable y la varianza acumulada que indican la proporción de la variabilidad en los datos de cada componente principal (PC) y la proporción acumulada de la variabilidad de la muestra explicada por PC consecutivos, respectivamente. Se utilizó el criterio de Kaiser para definir el número de PC seleccionándose valores propios mayores a 1 (Irwing et al., 2018). Se comparó la distribución de datos con cuatro y cinco PC, se encontraron diferencias en las varianzas de las variables que describen cada PC y al usar un valor superior al 80 % de la varianza acumulada que definiría el análisis con cinco PC se encontró que ninguna variable explica la varianza del PC5 razón por la cual se definieron cuatro PC.

Tabla III.7 Valor propio, varianza total y acumulada de las variables utilizadas para la determinación de los componentes principales en base a la matriz de correlación aplicada a 21 atributos de calidad poscosecha de frutos de naranjilla control y tratada con 1-MCP (0,5 $\mu\text{L/L}$ - 8h) almacenados durante 21 días a 4°C

Número valor	Valor propio	Varianza total (%)	Acumulada (%)
1	10,42	49,65	49,65
2	2,94	14,01	63,66
3	2,01	9,57	73,24
4	1,23	5,88	79,13
5	0,89	4,25	83,39
6	0,79	3,79	87,18
7	0,59	2,84	90,02
8	0,53	2,56	92,59
9	0,39	1,86	94,45
10	0,31	1,48	95,94
11	0,23	1,12	97,07
12	0,17	0,83	97,90
13	0,12	0,60	98,51
14	0,06	0,33	98,84
15	0,06	0,29	99,14
16	0,05	0,26	99,40
17	0,04	0,21	99,61
18	0,03	0,14	99,76
19	0,02	0,13	99,90
20	0,01	0,05	99,96
21	0,01	0,03	100,00

El 79,13 % de la variación total en las variables analizadas en la naranjilla durante el periodo de almacenamiento se representaron con cuatro PC; las varianzas de las variables que describen cada PC se indican en la tabla **Tabla III.8**, se consideraron significativas para cada PC aquellas correlaciones con valores $r \geq |0.50|$ y se muestran resaltadas en color rojo.

Tabla III.8 Varianzas de los cuatro componentes (factores) determinados por PCA en base a la matriz de correlación aplicada a 21 atributos de calidad poscosecha de frutos de naranjilla control y tratada con 1-MCP (0,5 $\mu\text{L/L}$ - 8h) almacenados durante 21 días a 4°C

VARIABLE	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4
Tratamiento	-0,26	0,83	-0,02	-0,30
Pérdida peso	0,88	0,15	0,21	0,18
Índice deterioro	0,89	-0,24	0,13	0,24
Produc. Etileno	0,31	0,27	0,72	-0,03
Tasa respiratoria	0,94	-0,01	0,10	0,19
Firmeza	-0,66	0,25	0,29	-0,06
pH	-0,35	-0,47	-0,17	0,61
Acidez total	0,65	0,55	-0,07	0,01
Sólidos solubles	-0,37	-0,07	0,83	0,01
<i>Ratio</i>	-0,68	-0,43	0,45	0,04
<i>L*</i>	-0,69	0,52	0,05	0,36
Hue	-0,24	0,27	-0,37	0,36
<i>Cr*</i>	-0,61	0,43	0,15	0,47
Manchas	0,91	0,00	0,29	0,17
Mohos+Lev	0,91	-0,30	0,06	0,05
Aerobios totales	0,94	0,10	0,02	0,07
FT	-0,76	-0,41	-0,19	-0,03
Carotenoides	-0,40	0,58	0,02	0,20
TEAC-ABTS	-0,60	-0,32	0,25	0,08
TEAC-FRAP	-0,82	0,01	0,01	0,14
TEAC-DPPH	-0,92	-0,16	0,13	-0,14

La variabilidad del PC1 (49,66 %) explica una relación cercana con 15 de las 21 variables bajo estudio, es decir que el tratamiento con 1-MCP afecta directamente a las características fisicoquímicas (pérdida de peso, ID, TR, firmeza, AT, *ratio*, *L**, *Cr** y desarrollo de manchas), microbiológicas (aerobios mesófilos, mohos y levaduras) y antioxidantes (FT, TEAC-ABTS, TEAC-FRAP y TEAC-DPPH) de la naranjilla.

El tratamiento (1-MCP) es un atributo que caracteriza el 14,01 % de variabilidad total correspondiente al PC2 junto con la AT, *L** y el contenido de carotenoides. En complemento, el PC3 describe el 9,5 % de la variabilidad total explicada por la producción de etileno y los SS; y el PC4 que representa una variabilidad del 5,8 % de la variabilidad total está explicada únicamente por el pH. La variable que no influye en ningún PC es el ángulo Hue. En la **Figura III.11** se presenta la gráfica de doble proyección que demuestra la distribución de las variables respecto a los PC 1 y 2.

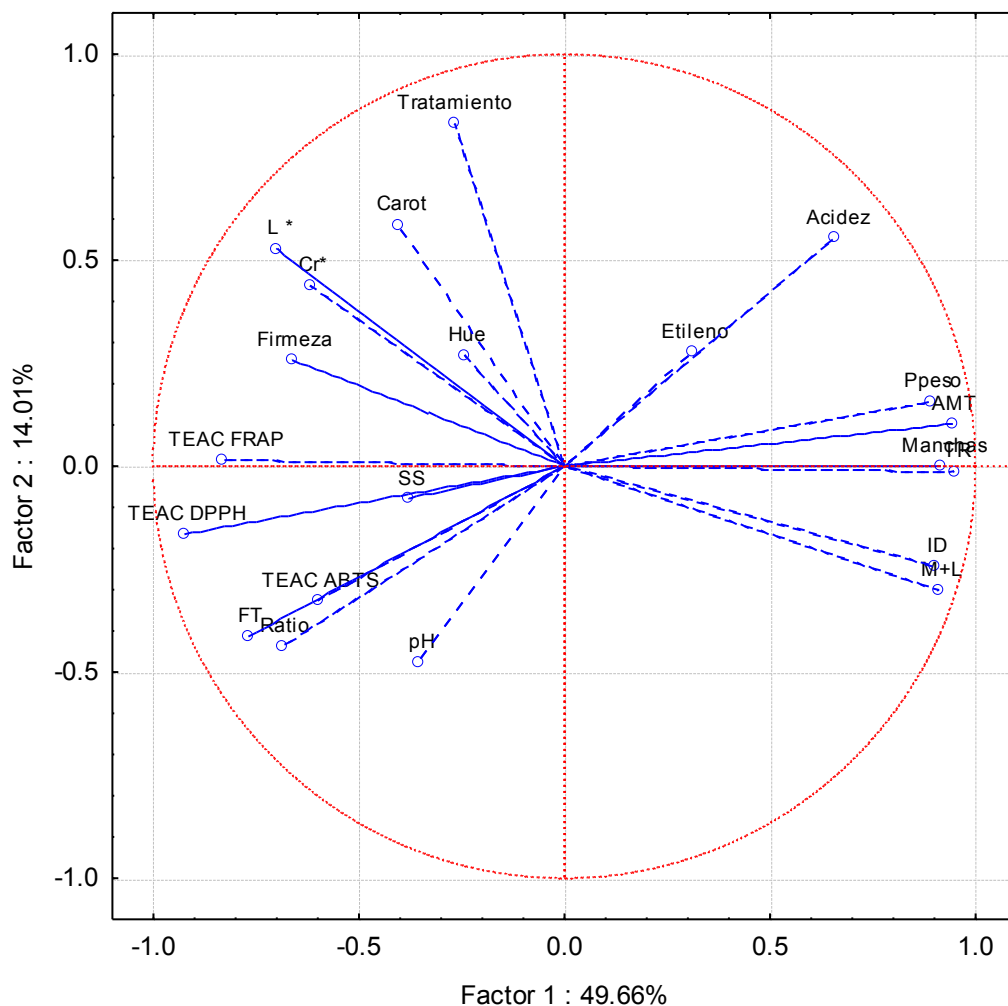
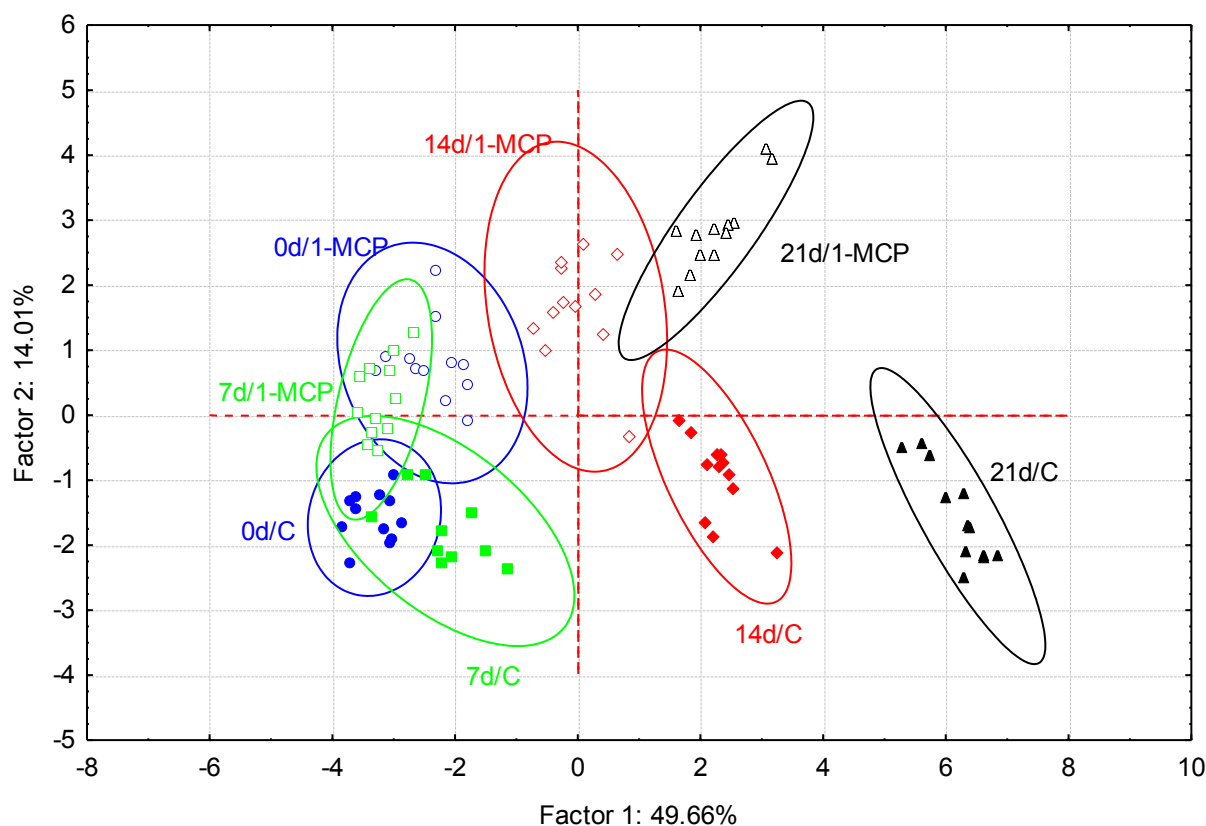


Figura III.11 Gráfica de doble proyección (*Correlation loadings plot*) del análisis de componentes principales (PCA) de los dos primeros componentes principales que muestran la correlación aplicada a 21 atributos de calidad poscosecha de frutos de naranjilla control y tratada con 1-MCP (0,5 $\mu\text{L/L}$ - 8h) almacenados durante 21 días a 4°C

Las elipses representadas en la **Figura III.12** señalan los frutos de naranjilla control y tratadas en los diferentes días de almacenamiento. Se demuestra que la exposición de frutos de naranjilla a una concentración de 0,5 $\mu\text{L/L}$ de 1-MCP durante 8h produce características en los frutos que permite claramente la diferenciación de tres grupos. El primer grupo representado por las muestras control y tratadas de los días 0 y 7 que ligeramente se diferencia de un segundo grupo que corresponde a tiempos de almacenamiento de días 14 y 21 de los frutos tratados y del día 14 de los controles que se muestra sutilmente separado. El tercer grupo, claramente diferenciado del resto corresponde a las muestras control pertenecientes al día 21.



Frutos Control: marcadores rellenos, **Frutos tratados:** marcadores sin relleno,
Tiempo de almacenamiento (días): 0 (círculos azules), 7 (cuadrados verdes), 14 (rombos rojos), 21 (triángulos morados)

Figura III.12 Análisis de componentes principales (PCA) de los dos principales componentes que muestran la correlación (*loadings and scores*) aplicada a 21 atributos de calidad poscosecha y contenido de compuestos antioxidantes de frutos de naranjilla control y tratada con 1-MCP (0,5 $\mu\text{L/L}$ - 8h) almacenados durante 21 días a 4°C

Se encuentran pocos trabajos de investigación con el análisis de componentes principales en relación al uso del 1-MCP como tratamiento poscosecha. Entre otros se pueden mencionar a Jiang et al. (2014) que estudiaron la diferenciación proteómica del durazno durante la maduración con la aplicación de 1-MCP en combinación con tratamientos térmico y que a través del PCA redujeron la dimensionalidad de los datos y estudiaron la relación entre los diferentes tiempos de almacenamiento mediante la determinación de los puntos con mayor carga en la varianza. Gago et al., (2015) utilizaron el PCA para discriminar variables de calidad de manzana tratada con 1-MCP y posteriormente almacenada en refrigeración, hallando en este caso dos grupos (control y tratados) discriminados principalmente por las variables Hue y L^* , firmeza, pérdida de electrolitos y escaldado superficial. Li et al (2018), explican a través del PCA que en zarzamora el H_2O_2 es la variable más importante para mantener las actividades

antioxidantes como resultado del tratamiento con 1-MCP. Asimismo, Balbotín et al (2007) confirman a través del PCA la influencia del 1-MCP en la síntesis de compuestos volátiles en la papaya de montaña. Sin duda, es una herramienta de importancia que permite completar los análisis de datos y resaltar aquellas determinaciones de mayor relevancia y/o influencia.

III. CONCLUSIONES

El 1-MCP es una herramienta extensamente utilizada para manipular la senescencia y maduración de productos frutihortícolas en poscosecha. En la primera parte del estudio, se encontró que los frutos de naranjilla cosechados en grados de madurez 4-5 expuestos a 0,5 $\mu\text{L/L}$ de 1-MCP por 8, 12 y 24 h a 12 °C y almacenados en refrigeración (4 °C) durante 28 días presentaron diferencias en su comportamiento. Si bien los 3 tratamientos con 1-MCP lograron retrasar el daño por frío o deterioro de los frutos, la concentración de 1-MCP 0,5 $\mu\text{L/L}$ aplicada por 8 h resultó ser la más efectiva al mostrar la mejor apariencia visual, la menor pérdida de peso y el avance del deterioro de los frutos de naranjilla.

En la segunda parte de la investigación se confirmó que el 1-MCP retrasa la pérdida de peso, disminuye la tasa respiratoria y retiene la firmeza de la naranjilla. No afecta significativamente la producción de etileno y el pH, y no se encontraron efectos claros sobre la acidez, el contenido de sólidos solubles y en consecuencia el *ratio*. También permite mantener mejores características de color, ya que el tratamiento produce menor reducción de los valores de L^* , Hue y Cr^* y un menor desarrollo de manchas pardas en la superficie del fruto. Sin ser considerada una tecnología para el control de microorganismos, se comprobó que permite mantener en menores niveles la población de aerobios mesófilos, mohos y levaduras. En cuanto al contenido de antioxidantes, tal como reporta la literatura científica, los resultados son disímiles, si bien el tratamiento no afectó significativamente al contenido de fenoles éstos disminuyeron durante el almacenamiento, se produjo un incremento de carotenoides y la capacidad antioxidante fue mayor que en los frutos controles. En consecuencia, el avance del daño por frío o deterioro del fruto se vio ralentizado; los frutos control perdieron su calidad organoléptica y comercial en el día 14, mientras que los frutos tratados mantuvieron mejores características de calidad durante los 21 días de almacenamiento.

Finalmente, a través de los análisis del perfil fenólico y de compuestos lipofílicos, se reveló la presencia y mejor retención durante el almacenamiento refrigerado en frutos de naranjilla tratados con 1-MCP de compuestos bioactivos de interés como aminas (derivados de espermidinas), compuestos fenólicos como el ácido clorogénico, ácidos grasos poliinsaturados (ácido petroselaidico, linoleico y linolénico), además de α -tocoferol y el monoéster (2-etil hexil)-ácido 1,2 bencendicarboxílico.

El PCA permitió confirmar las diferencias encontradas con los ANOVA, que señalan que bajo las condiciones de ensayo el tratamiento con 1-MCP (0,5 μ L/L - 8 h) en naranjilla variedad Baeza, incrementa su tiempo de vida útil por 7 días respecto a los frutos no tratados. Estos resultados sugieren que la inhibición de la acción del etileno con el empleo de 1-MCP, aún en estadios relativamente avanzados de madurez, sería una buena alternativa para mantener la calidad de naranjilla.

Capítulo IV



**Respuestas inducidas en frutos de naranjilla
por aplicación de tratamiento UV-C y 1-MCP
que influyen sobre el control de *Fusarium***

IV. INTRODUCCIÓN

Las plantas están expuestas a estrés de tipo biótico, causado por el ataque de otros organismos y abiótico producido por un exceso o déficit de algún factor de origen físico o químico. Existen respuestas comunes de los sistemas biológicos a los diferentes tipos de estrés que desencadenan el incremento de la concentración de EROs, no obstante, estas respuestas son atribuidas a mecanismos propios de cada especie (Apel y Hirt, 2004) y estarían controladas por un amplio rango de mecanismos moleculares que actúan junto como una red de regulación metabólica compleja en la que intervienen principalmente hormonas (Atkinson y Urwin, 2012). En la **Figura IV.1** se presenta un esquema propuesto para explicar la interrelación entre hormonas, factores de transcripción y otros componentes reguladores cuando el tejido es expuesto a estrés de tipo biótico y abiótico. Más allá de cada secuencia de reacciones, es de destacar la complejidad de la interrelación existente, y que se hallan diferentes alternativas de señalización, activación de respuestas e inhibición de otras.

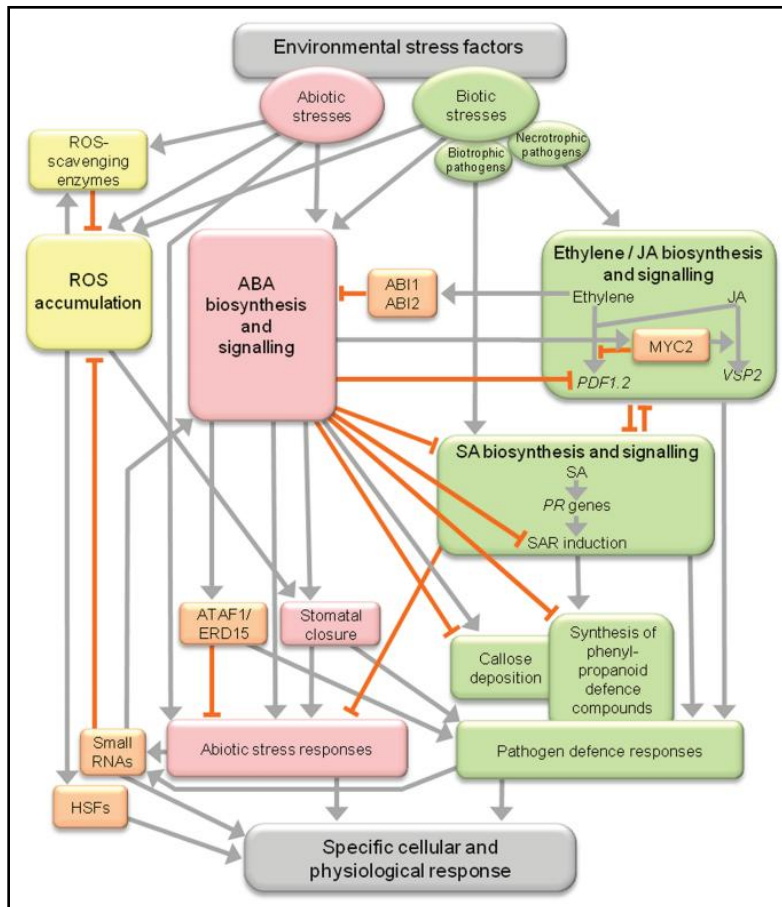


Figura IV.1 Rol de las hormonas de las plantas como mecanismo de regulación de la interacción entre el estrés biótico y abiótico (Fuente: Atkinson y Urwin, 2012)

La formación de EROs inducida por la exposición de la célula a cualquier tipo de estrés puede generar dos efectos diferentes: (I) inducir la expresión de genes y vías de transducción de señales que activan programas genéticos llegando a constituir a las EROs como indicadores ambientales de señales biológicas; y (II) producir acumulación de EROs por un desbalance entre la producción y eliminación de estas moléculas con el consecuente ataque a biomoléculas (proteínas, lípidos, ADN y azúcares) causando un daño oxidativo irreversible y finalmente la muerte celular (Dalton et al., 1999).

Para el control de las EROs producidas en las células (bajo condiciones normales o por exposición a algún tipo de estrés) los tejidos de las plantas contienen compuestos antioxidantes de tipo enzimático (superóxido dismutasa -SOD-, catalasa -CAT-, peroxidasas -POX- y glutatión peroxidasa), productos de detoxificación de peroxilípidos (glutatión S-transferasas, fosfolípido hidroperóxido, glutatión peroxidasa y ascorbato peroxidasa -APX-) y compuestos no enzimáticos de bajo peso molecular (ácido ascórbico, glutatión, compuestos fenólicos y tocoferoles). Para la regeneración de formas activas de antioxidantes se requiere de la acción de enzimas como monodehidroascorbato reductasa, dehidroascorbato reductasa y glutatión reductasa (Blokhina et al., 2003).

EROs y estrés biótico.- Cuando se produce el ataque de un patógeno en el tejido vegetal, las EROs juegan un papel central para su defensa, ya que son producidas por las células a través de la actividad de enzimas como: oxidasas-NADPH unidas a la membrana, amino-oxidasas unidas a la pared celular en el apoplasto; luego directamente o por acción de la enzima SOD se produce la formación de H_2O_2 que puede difundir al interior de la célula y activar la defensa de la célula (enzimas y compuestos antioxidantes), incluyendo una respuesta hipersensible; no obstante, se ha comprobado que la actividad de CAT y APX se ven reducidas por acción del ácido salicílico y del óxido nítrico (componentes propios de la célula). Este tipo de respuesta antagónica se produce como parte del mecanismo de defensa del tejido, y simultáneamente se producen más EROs que se acumulan, mientras disminuye su capacidad de neutralizarlos. La respuesta hipersensible generada limita la distribución del patógeno desde el punto de infección; una vez que es detectada la presencia del patógeno se produce una muy rápida acumulación inicial de H_2O_2 , seguida de una producción prolongada secundaria (a modo de ráfagas), manteniendo de forma complementaria activo al sistema antioxidante enzimático y no enzimático para evitar la propagación del patógeno en el tejido (Grant y Loake, 2000; Hammond-Kosack y Jones, 2000; Klessig et al., 2000).

EROs y estrés abiótico.- El rol que juegan las EROs frente al estrés abiótico parece ser opuesto al que se produce bajo estrés biótico. Durante el estrés abiótico se induce la actividad de las enzimas antioxidantes para disminuir la concentración de EROs intracelulares. La diferencia de la función de las

EROs entre el estrés biótico y abiótico podría surgir de la acción de las hormonas y vías de señalización o por la diferente localización de las EROs que son producidas y/o acumuladas por los diferentes tipos de estrés. Debe considerarse entonces cómo las plantas pueden regular los mecanismos de producción/eliminación de EROs cuando son expuestos al ataque de patógenos y a condiciones de estrés abiótico. Se ha comprobado que un pretratamiento de estrés oxidativo incrementa la actividad de enzimas antioxidantes reduciendo la capacidad del tejido de producir EROs e inducir la MCP (Blokhina et al., 2003; Mittler et al., 1999).

IV.a. TECNOLOGÍAS POSCOSECHA Y ESTRES BIÓTICO y ABIÓTICO

Se encuentran numerosos estudios sobre la aplicación de tecnologías y su relación con la activación del sistema antioxidante enzimático y no enzimático tanto para evaluar su efecto sobre la vida útil y la calidad organoléptica, fisicoquímica y microbiológica en la etapa poscosecha de productos frutihortícolas, como para dilucidar los mecanismos de acción de estas tecnologías sobre la fisiología de estos.

En el presente capítulo de la tesis abordaremos las tecnologías de radiación UV-C y 1-MCP, como inhibidor de la acción del etileno, y analizar si ellas puedan modular la respuesta a la infección de microorganismos.

En primer lugar, las tecnologías poscosecha como la **radiación UV-C** se usan para extender la vida útil de frutas y hortalizas debido a dos efectos: (I) *efecto germicida directo* debido a su capacidad de producir fotolesiones al ADN de los microorganismos y (II) *efecto hormético*, producido por la inducción de una respuesta benéfica en el tejido con la síntesis de sustancias que inducen resistencia a patógenos o con actividad antioxidante. El tratamiento con luz UV-C reduce la actividad de enzimas de degradación de pared celular como poligalacturonasa, celulasa, xilanasa, entre otras; según Barka (2001), estas enzimas pueden ser moléculas blanco de la radiación UV-C para inducir proteólisis o su síntesis *de novo*, retrasando la maduración y la senescencia.

Por otro lado, algunas de las investigaciones sugieren la potencial aplicación industrial de la radiación UV-C. Así, en frutos tropicales (piña, banana y guaba) frescos cortados ha sido utilizada con el fin de incrementar el contenido de flavonoides, polifenoles y la actividad antioxidante, además de reducir la carga microbiana a niveles aceptables (Alothman et al., 2009). En frutillas tratadas con diferentes dosis se encontró que la radiación UV-C produce un incremento en el contenido de antocianinas e induce la actividad de enzimas como glutatión peroxidasa, superóxido dismutasa, ascorbato peroxidasa, entre otras, además de reducir el decaimiento comparados a los frutos sin tratamiento (Erkan et al., 2008). En

uvas orgánicas se comprobó que la radiación UV-C estimula la expresión de genes involucrados en la biosíntesis de compuestos fenólicos produciendo su acumulación además de incrementar la actividad antioxidante (Porto-Pinto et al., 2016). El tratamiento con radiación UV-C en tomate indujo la síntesis de tomatina, un alcaloide asociado a la resistencia a *Rhizopus stolonifer* (Stevens et al., 1998).

En segundo lugar, la tecnología poscosecha empleando **1-MCP**, reconocido inhibidor de la acción del etileno no sólo se ha evaluado como una alternativa para el retraso de la maduración y senescencia, sino también se ha evaluado en relación a su efectividad para el control de microorganismos. Así, se trató tomate con 1-MCP para el control de *Alteraria alternata*, *Botrytis cinerea* y *Fusarium spp.* (Su y Gubler, 2012). En alboricoques tratados con 1-MCP se observó menor desarrollo fúngico durante el almacenamiento (Zhang et al., 2012). Por otro lado, se ejerce un efecto indirecto ya que también se encontró diferencia en la actividad de compuestos antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos en piel de manzana tratada con 1-MCP (Shaham et al., 2003) y, se ha demostrado que el 1-MCP produce efectos sobre la actividad antioxidante y el metabolismo de compuestos fenólicos en durazno (Liu et al., 2015). El hecho de que el 1-MCP sea antagonista del etileno, hace que exista una relación directa con todos los mecanismos de reacción mediados por el etileno, como por ejemplo los procesos de maduración y cambios en el color, textura y compuestos relacionados con el sabor y aroma en frutos climatéricos, y otros como el incremento a la susceptibilidad de patógenos, desórdenes fisiológicos y senescencia con la consecuente reducción de la vida útil en frutos no climatéricos (Martínez-Romero et al., 2007). Estas diferencias de respuesta están dadas según la tasa de producción y susceptibilidad al etileno que es propia de cada producto. En lo que se refiere a la naranjilla, no se encuentran estudios publicados sobre la producción y susceptibilidad al etileno durante la maduración y poscosecha, no obstante se puede hacer alusión a especies del género *Solanum* como patatas y berenjenas que tienen una baja producción de etileno y son alta y medianamente sensibles al etileno (Wills y Warton, 2000), por lo que resulta interesante conocer la respuesta de la naranjilla frente al estrés biótico producido por *Fusarium* y su interacción con el estrés abiótico producido por el 1-MCP.

En este sentido, varios estudios demuestran que la maduración y senescencia están asociados con el incremento de la susceptibilidad a patógenos, entonces cualquier factor que modifique estos procesos influirá sobre la susceptibilidad del tejido frente al ataque de microorganismos en la etapa poscosecha.

IV.b. PÉRDIDAS POSCOSECHA PRODUCIDAS POR *Fusarium*

El género *Fusarium* es un grupo de hongos filamentosos, cuya taxonomía es bastante compleja y ha sufrido diversos cambios desde las primeras descripciones hechas por Link en 1803. De las más de 100

especies de *Fusarium* descritas, sólo 12 de ellas pueden considerarse patógenas para el humano, entre ellas destacan *F. solani*, *F. oxysporum* y *F. verticilloides*. Este género se encuentra ampliamente distribuido en temperaturas de países tropicales y ha sido aislado del suelo, plantas, semillas de cereales, cítricos, bananas, legumbres (Leslie y Summerell, 2006; Samson et al. 1995).

Se han realizado numerosos estudios en la búsqueda de estrategias de control de *Fusarium oxysporum* que incluyen métodos químicos, nutricionales, biológicos y de cultivo (Martyn, 2014). Se ha probado el uso de metil jasmonato exógeno para inducir una respuesta de defensa en plántulas de trigo (Motallebi et al. 2016) y se han determinado los factores relacionados con la fotosíntesis, su potencial rol en el sistema de defensa del tejido (Dong et al. 2016) y los genes involucrados en la resistencia a *F. oxysporum* (Enciso-Rodríguez et al. 2013; Wang et al. 2016). Es de destacar que los estudios pueden ser conducidos de dos maneras: (I) evaluar el efecto directo sobre el microorganismo que coloniza el producto frutihortícola y (II) evaluar el efecto indirecto mediante el cual el producto activa mecanismos de defensa frente al estrés que genera el tratamiento y que a su vez lograrán una mayor resistencia ante los microorganismos. En el primer caso, se encuentran estudios que demuestran la efectividad de la exposición a 1-MCP en melón para el control del decaimiento producido por *Alternaria* y *Fusarium* (Gal et al., 2006), además se ha comprobado el efecto *in vitro* anti-*Fusarium oxysporum* de aceites esenciales de hojas de canela, hinojo, albahaca, entre otros (Pawar y Thaker, 2007). En el segundo caso, se pueden citar trabajos de investigación como el uso de quitosano y ácido salicílico para reducir el desarrollo de *F. oxysporum* en cultivos de tomate (Lafontaine y Benhamou, 1996; Mandal et al., 2009) y la aplicación de radiación gamma para producir plantas de banano resistentes al ataque de *F. oxysporum* (Bhagwat y Duncan, 1998).

Los géneros de mohos filamentosos caracterizados como las principales plagas en naranjilla son *Phytophthora infestans*, *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum gloesporioides* y *Cladosporium* (Andrade-Cuvi et al., 2013; Montes Rojas et al., 2010). Es así que en frutos de naranjilla de tres grados de madurez infectados con *Colletotrichum acutatum* se ha estudiado la inducción de la enzima PAL, POX y contenido de compuestos fenólicos y se determinaron diferencias entre los grados de madurez analizados. Se encontró una relación directa entre la tolerancia al microorganismo y la alta actividad de PAL y concentración de compuestos fenólicos en frutos pintones (grado de madurez 4), en tanto que en frutos con evidente desarrollo fúngico no se observaron cambios en la actividad enzimática de POX y los compuestos fenólicos (Arrieta-Guevara et al., 2010; Caicedo et al., 2009).

En el Ecuador, el INIAP ha desarrollado variedades de cultivos de naranjilla resistentes a *Fusarium oxysporum* enfocados principalmente a mejorar la producción en campo, producidas a partir de injertos

en patrones de solanáceas silvestres. La variedad mejorada INIAP Quitoense 2009 se obtuvo a partir de una selección de la variedad Baeza desarrollada entre los años 2005 - 2007 (Viteri et al., 2009), otras variedades desarrolladas son las Híbrido-Palora e Híbrido Puyo (Morales et al., 2008) y estos a su vez son provenientes del cruzamiento de *Solanum Sessiliflorum* x *S. quitoense* (Silva et al., 2016). Sin embargo, hoy se cultivan otras variedades que se adaptan bien a los distintos tipos de suelo y alturas, y si bien presentan resistencia a plagas no presentan las mismas características organolépticas que *Solanum quitoense*. Es por ello, que se buscan alternativas de tratamientos poscosecha que mantengan y/o mejoren la calidad de la fruta de las distintas variedades y permitan incrementar su vida de anaquel, no sólo por mantener la calidad organoléptica y nutricional sino también la calidad microbiológica. Con estos antecedentes, el objetivo del presente capítulo fue determinar el efecto de radiación UV-C y 1-MCP sobre la inducción de la resistencia al ataque de *Fusarium* en naranjilla cv Baeza y sobre el contenido de compuestos fenólicos y enzimas relacionadas con su metabolismo (PAL, PPO y POX).

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

IV.1. Aislamiento e identificación de hongos filamentosos en naranjilla

En los frutos mantenidos 10 días en oscuridad a temperatura ambiente se observó el desarrollo de micelio blanco cuyo crecimiento inicial se produjo en el pedúnculo y a medida que transcurrían los días de almacenamiento el crecimiento del hongo avanzaba hacia el interior del fruto produciendo ablandamiento y pérdida de líquido (**Figura IV.2a**). Por otro lado, durante la obtención del cultivo monospórico *in vitro* se observó un solo tipo de colonia. En PDA a 25°C las colonias presentaron un diámetro de 7.5 a 9 cm en 8 días presentando mejor crecimiento que en agar Sabouraud (**Figura IV.2b**). El aislado se describe como un hongo filamentoso de crecimiento lento, con micelio aéreo algodonoso, pálido-blanquecino en la superficie y amarillento en el reverso. En la observación microscópica se distinguieron fiálides finas (células que producen conidios blásticos) con forma de botella simples o ramificados y clamidosporas ovales o globosas distribuidas de manera aislada, en pareja o en grupo (**Figura IV.2c**); además se encontraron macroconidios en forma de medialuna, hialinos y septados (**Figura IV.2d**). Todas estas características concuerdan con la descripción morfológica del género *Fusarium* (Sempere et al., 2004; Samson et al., 1995).

El análisis por PCR convencional resultó negativo para *Fusarium oxysporum*, entonces se realizó el análisis de la secuencia en el módulo Blast del programa Geneious 9.0.2 y se obtuvo un porcentaje de identidad en la región EF α (Factor α de elongación de la transcripción) de 97.8% para *Fusarium sp.*

(CDFA874), de 97.2% para *Fusarium polyphialidicum* (strain XB4-1: KM487210) y 97.2% para *Fusarium polyphialidicum* (GQ425229) reportándose como los de mayor porcentaje de identidad.

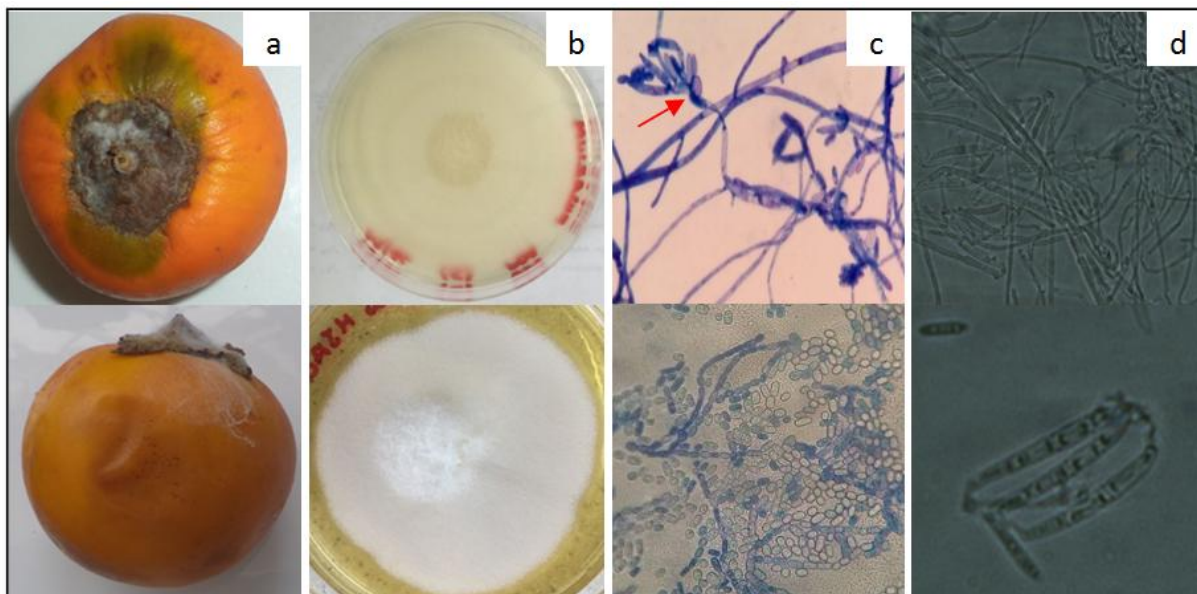


Figura IV.2 *Fusarium polyphialidicum*: (a) crecimiento en frutos naranjilla; (b) colonia en PDA -arriba- y agar Sabouraud -abajo- luego de 5 días de incubación a 25°C; (c) fíalides - flecha roja-, conidióforos y macroconidios x100 -arriba- y clamidosporas -abajo- en tinción con azul de lactofenol y (d) conidióforos y macroconidios x400 (microscopía confocal)

El género *Fusarium* incluye diversos clados filogenéticos, contenidos en complejos de especies. La taxonomía de *Fusarium* es compleja y ha sufrido varios cambios, actualmente está constituido por 70 especies (Leslie y Summerell, 2006). En la **Figura IV.3** se muestra el árbol filogenético en el que se puede observar la diversidad genética de *Fusarium*. En el área agrícola, este género incluye especies patógenas cuya incidencia y severidad de la enfermedad que causan, depende de las condiciones ambientales como temperatura y humedad (Kikot et al., 2012; Logrieco et al., 2003). Este género además de contaminar las plantas (raíces, tallos, frutas) produce micotoxinas (da Rocha et al., 2014).

La principal causa de pérdidas de cultivo en naranjilla se debe al ataque de *F. oxysporum*, la enfermedad se denomina "fusariosis" y produce marchitez del tallo. El ataque se inicia por las raíces y se propaga por el sistema vascular de la planta y produce manchas necróticas que provocan marchitamiento, debido a esto, las investigaciones se han enfocado en el manejo de la fusariosis y la evaluación de la resistencia de las plantas de naranjilla al ataque de este microorganismo (Arizala et al., 2011; Ochoa et al., 2010; Revelo et al., 2010; Viteri et al., 2009; Ochoa y Gallardo, 2004). Sin embargo, en el aislamiento logrado en la presente tesis no se halló este hongo debido probablemente a un buen control del mismo por

parte de los productores. Por el contrario, se halló la presencia de *F. polyphialidicum* en la naranjilla cv Baeza, y hasta el momento no se registran estudios de este y del efecto que logran las tecnologías poscosecha sobre éste.

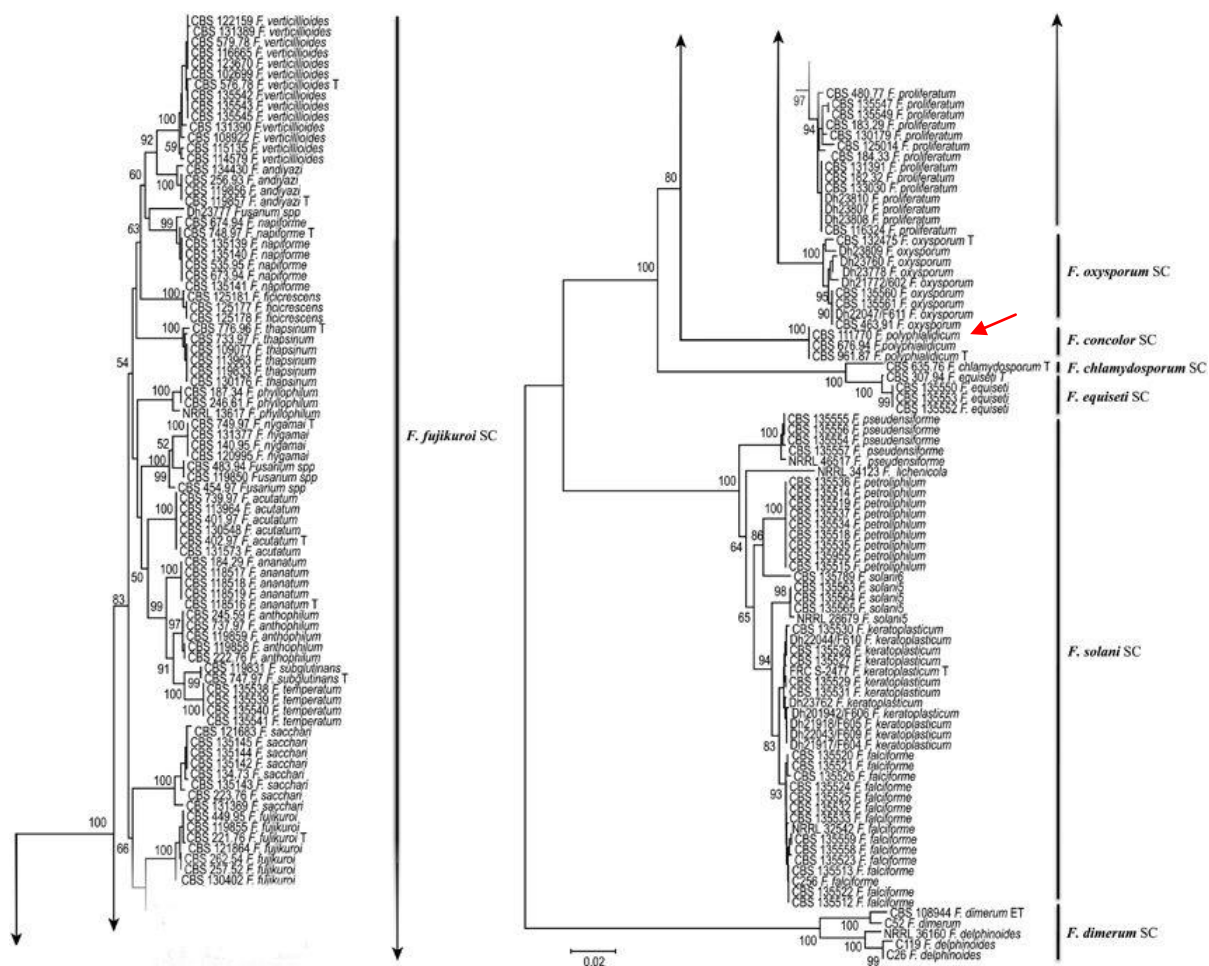


Figura IV.3 Árbol genético de la especie *Fusarium* resultado del análisis de genes RPB2 y TEF1. La especie *polyphialidicum* se indica con flecha roja. (Fuente: Al-Hatmi et al. 2016)

F. polyphialidicum se identificó por primera vez en plantas en descomposición en Sudáfrica en 1984 (Marasas, 1986), posteriormente se encontró en Norte América y se demostró que es un patógeno oportunista de la polilla gitana (Hajek et al., 1993). Esta especie de hongo se ha encontrado en la rizósfera y en semillas de pino blanco (Ocamb et al., 2002), en el suelo de cultivos de mijo, sorgo (Onyike y Nelson, 1993) y maíz (Okoth y Siameto, 2010), en semillas de arroz (Maheshwar, 2015) y en ramas de cacao ha sido reportado como parte de la microflora fúngica endófito (Rubini et al., 2005). Entre otras

especies de este género, se identificó *F. polyphialidicum* en ananá y se comprobó la presencia de micotoxinas (fumonisinas B1, B2 y B3) en el jugo y en fracciones de la piel de frutos originarios de Ecuador y Costa Rica (Stępień et al., 2013), no obstante, la contribución de *F. polyphialidicum* como productor de micotoxinas es limitada respecto a otras especies como *F. proliferatum* o *F. verticillioides* (de Oliveira et al., 2015; Maheshwar, 20015; Pozzi et al., 2002).

La presencia de *F. polyphialidicum* en naranjilla puede producirse por el contacto directo de los frutos con el suelo o con hojas contaminadas con esporas del hongo que también pueden ser arrastradas por el viento, o por malas prácticas de manipulación. Las condiciones de temperatura y humedad, así como el tiempo que transcurre entre la cosecha y el consumo pueden proveer las condiciones ideales para el desarrollo visible del hongo en la fruta que finalmente se desecha, sin embargo, mientras el desarrollo fúngico no es visible ya se producen micotoxinas por lo que se hace necesaria la aplicación de tecnologías que permitan el control del desarrollo fúngico en la fruta. Por otro lado, según explican Hammond-Kosack y Jones (1996) el reconocimiento de patógenos es resultado de la interacción directa o indirecta de un producto de un gen de resistencia dominante o semidominante del tejido vegetal con un producto del gen de avirulencia patógena dominante, produciendo una serie de procesos de transducción de señales que activan una matriz de respuestas de defensa.

IV.2. Efecto del pretratamiento con radiación UV-C y 1-MCP sobre el crecimiento de *Fusarium polyphialidicum* inoculado en naranjilla

Se evaluó el efecto del tratamiento con radiación UV-C (9,5 KJ/m²) y 1-MCP (0,5 µL/L - 8h) previo a la inoculación de *F. polyphialidicum* en frutos de naranjilla, de este modo no analizaremos el efecto directo sobre el hongo, sino más bien el efecto hormético logrado, es decir, de como el fruto puede potenciar sus mecanismos de defensa frente al estrés abiótico y con ello generar mejores condiciones para afrontar un estrés posterior, en este caso la infección o estrés biótico. Los resultados experimentales *in vivo* mostraron que los pretratamientos poscosecha redujeron significativamente el desarrollo del microorganismo (**Figura IV.4**) como lo demuestra el halo de infección externo de crecimiento del hongo e invasión del tejido interno, y la apariencia, pérdida de peso y firmeza del fruto.

En los frutos control (sin inoculación) se observaron síntomas típicos de deterioro del fruto mantenido a temperatura ambiente por periodos prolongados, a los 12 días post-inoculación (dpi) los frutos presentaron incipiente desarrollo fúngico y deshidratación alrededor del pedúnculo, zonas blandas y manchas oscuras en la superficie, además de una notable pérdida de firmeza al tacto de forma que su calidad organoléptica y comercial se veía reducida.

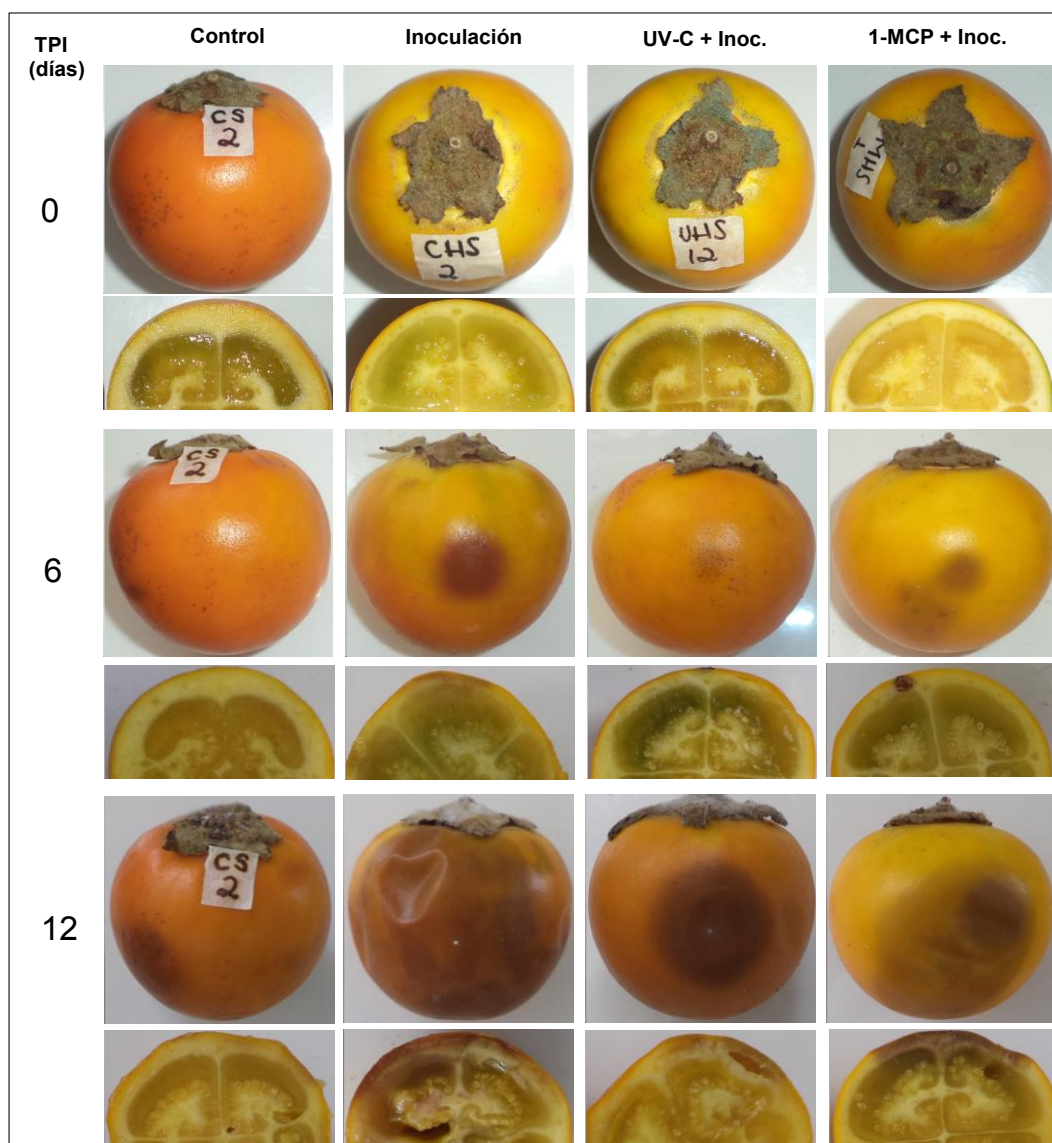


Figura IV.4 Apariencia externa e interna de frutos control (sin inoculación), frutos inoculados con *Fusarium polyphialidicum*, frutos pretratados con radiación UV-C (9,5 KJ/m²) y 1-MCP (0,5 µL/L - 8h) y posterior inoculación y almacenados a temperatura ambiente por 6 y 12 días

La herida producida en la inoculación de los frutos con una concentración de 10^8 cél/mL de esporas y micelio de *F. polyphialidicum* no produjo ningún cambio visible al inicio del experimento (día 0). Mientras que 6 dpi los frutos inoculados presentaron una notable mancha marrón en la zona de inoculación, mientras que en el interior se observó oscurecimiento en el mesocarpo alrededor de esta zona. Además, se observó el avance del ablandamiento (el tejido tomó apariencia de gel) en el endocarpo y la pérdida de firmeza al tacto fue mayor que en los frutos control (sin inoculación). Respecto a los frutos inoculados, las áreas y los síntomas de deterioro producido por el ataque del

hongo se redujeron en mayor medida en los frutos pretratados con radiación UV-C que en aquellos pretratados con 1-MCP; a tiempos medios de almacenamiento la dosis de 9,5 kJ/m² de radiación UV-C restringió el crecimiento del hongo sólo al epicarpio del fruto.

Al final del experimento (12 dpi) los frutos inoculados presentaron desarrollo severo de *F. polyphialidicum*, la mancha de color marrón ocupó prácticamente la totalidad de la superficie del fruto y existió micelio blanco en el pedúnculo. Internamente se observó el cambio de color y ablandamiento del mesocarpio y endocarpio, así como también deterioro visible de las semillas. La diferencia de avance del deterioro entre los frutos inoculados y los pretratados es notable para este tiempo, la aplicación de 9,5 kJ/m² de radiación UV-C permitió reducir la severidad del desarrollo fúngico en mayor medida que 1-MCP.

La medida del halo de infección externo (**Figuras IV.5a y IV.5c**) e interno (**Figuras IV.5b y IV.5d**) permitió determinar el avance del ataque de *F. polyphialidicum* en el pericarpio, mesocarpio y endocarpio de los frutos de naranjilla. Luego de 12 dpi, los frutos inoculados presentaron manchas marrones alrededor del punto de inoculación con un diámetro promedio de 26,5 mm a diferencia de los diámetros de las manchas en los frutos pretratados con 1-MCP y radiación UV-C que presentaron una reducción del 35% (17,2 mm) y 39% (16,3 mm), respectivamente. En cuanto al tejido interno infectado se pudo observar la marcada reducción del deterioro del tejido producido por los tratamientos aplicados; los frutos inoculados y sin tratamiento presentaron una profundidad en el avance del daño de tejido de 18,7 mm, mientras que los tratamientos de 1-MCP y UV-C redujeron 20 y 50%, respectivamente, la profundidad del avance de daño producido por el hongo. El pretratamiento con radiación UV-C fue más efectivo ya que restringió el crecimiento al mesoderma, mientras que el pretratamiento con 1-MCP permitió una mayor penetración del hongo que alcanzó el endoderma. Sin embargo, ambos tratamientos redujeron significativamente la dimensión de la infección respecto de aquellos frutos sólo inoculados. De esta manera, ambos tratamientos serían efectivos para el control de *F. polyphialidicum* y otorgan una alternativa tecnológica para combinar con la refrigeración. A su vez, los resultados alcanzados estarían indicando que la respuesta de los frutos de naranjilla (cv Baeza) ante un estrés biótico (infección por *F. polyphialidicum*) no estaría siendo mediada sólo por el etileno, ya que ambos tratamientos fueron efectivos en el control de la infección.

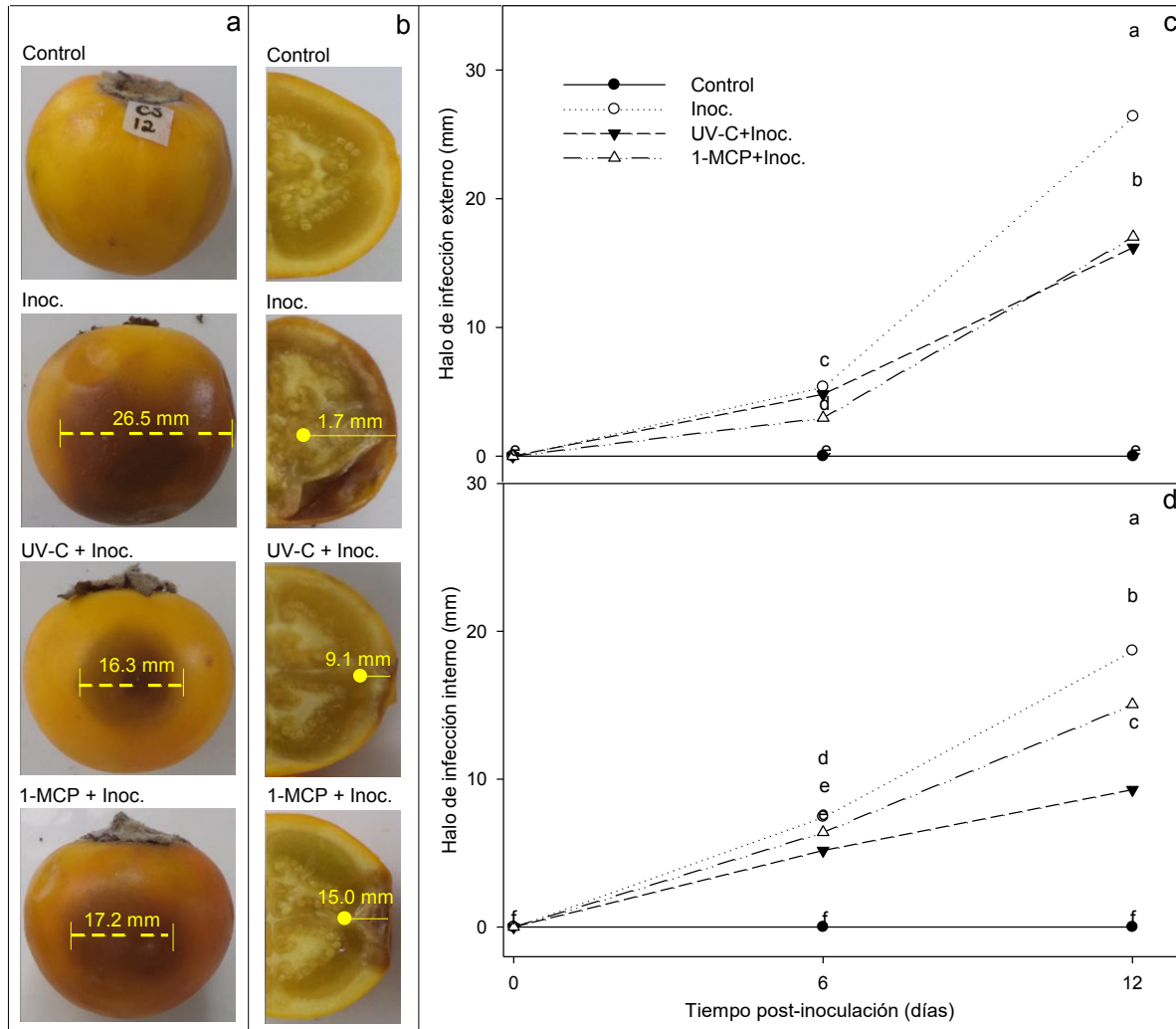


Figura IV.5 Halo de infección (a y c) externo y (b y d) interno en frutos control (sin inoculación), frutos inoculados con *Fusarium polyphialidicum*, frutos pretratados con radiación UV-C (9,5 KJ/m²) y 1-MCP (0,5 µL/L - 8h) e inoculados y almacenados a temperatura ambiente por 6 y 12 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de P < 0,05

Por otro lado, se observó un incremento en la pérdida de peso y reducción de la firmeza en los frutos de naranjilla durante el almacenamiento refrigerado. A un tiempo de 12 dpi, el mayor porcentaje de pérdida de peso se produjo en los frutos inoculados y los controles con un valor aproximado de 4,2%. Los pretratamientos aplicados redujeron la pérdida de peso a 3,7 y 3,2% para radiación UV-C y 1-MCP, respectivamente (**Figura IV.6a**). Por otro lado, los pretratamientos permitieron reducir la pérdida de firmeza del fruto. A los 12 dpi los frutos pretratados e inoculados presentaron una reducción de aproximadamente 3,5 unidades, mientras que en los frutos inoculados esta diferencia fue de 4,7

unidades respecto al día 0 (**Figura IV.6b**). Probablemente la radiación UV-C y el 1-MCP habrían contribuido a mantener la integridad de la membrana celular (que se refleja en la menor pérdida de peso y mayor firmeza de los frutos pretratados respecto a los frutos inoculados) aumentando la resistencia del tejido al ataque del hongo y confirmando que la firmeza depende de la tasa de pérdida de peso según sugiere Rodov et al. (2000). Resultados similares a los obtenidos en la presente investigación fueron reportados en naranjas pretratadas con recubrimiento de quitosano e inoculadas con *Penicillium digitatum* (El Guilli et al., 2016), donde además se produjo un incremento en la actividad de la enzima glucanasa que hidroliza los enlaces β -1,4-glucano (mayor componente de la pared celular), y de la enzima quitinasa que hidroliza enlaces β -1,4 glucosídicos de los polímeros de quitina, que según explica Díaz-Perales (2000) y que presenta actividad inhibitoria frente al crecimiento de hongos.

Varios estudios demuestran la relación entre el retraso en la pérdida de firmeza de los frutos y el incremento de actividad de las enzimas glucanasa y quitinasa ya que limitan el desarrollo fúngico porque inducen resistencia sistémica (Ji y Kuc, 1995; Zhang y Quantick, 1998; Long et al., 2014). Se ha comprobado que la radiación UV-C produce un aumento transitorio de la actividad de estas enzimas 3 h después del tratamiento alcanzando su pico máximo 96 h después del tratamiento, sugiriendo que la respuesta de defensa bioquímica en la resistencia a enfermedades sería mediada por la radiación UV-C; estos cambios en el tejido están precedidos por la activación de los genes correspondientes (El Ghaouth et al., 2003). Esta respuesta se vería complementada con el hecho de que la radiación UV-C disminuye la transcripción de un conjunto de genes involucrados en la degradación de la pared celular manteniendo la firmeza del fruto (Pombo et al., 2011). Así, se estaría en presencia de un efecto hormético de la radiación UV-C sobre el fruto, y no sólo un efecto directo sobre el microorganismo patógeno. Por otro lado, numerosos estudios demuestran que la aplicación de 1-MCP modifica la actividad de enzimas relacionadas con el metabolismo de la pared celular como polimetilesterasa, poligalacturonasa, pectato liasa (Lohani et al., 2004), β -galactosidasa y α -L-arabinosa (Wei et al., 2010), entre otras, y consecuentemente contribuye a mantener la firmeza del fruto o fuerza del tejido que tal como sugieren Su y Gluber (2012), es un componente en la reducción del crecimiento del patógeno y la susceptibilidad de la fruta.

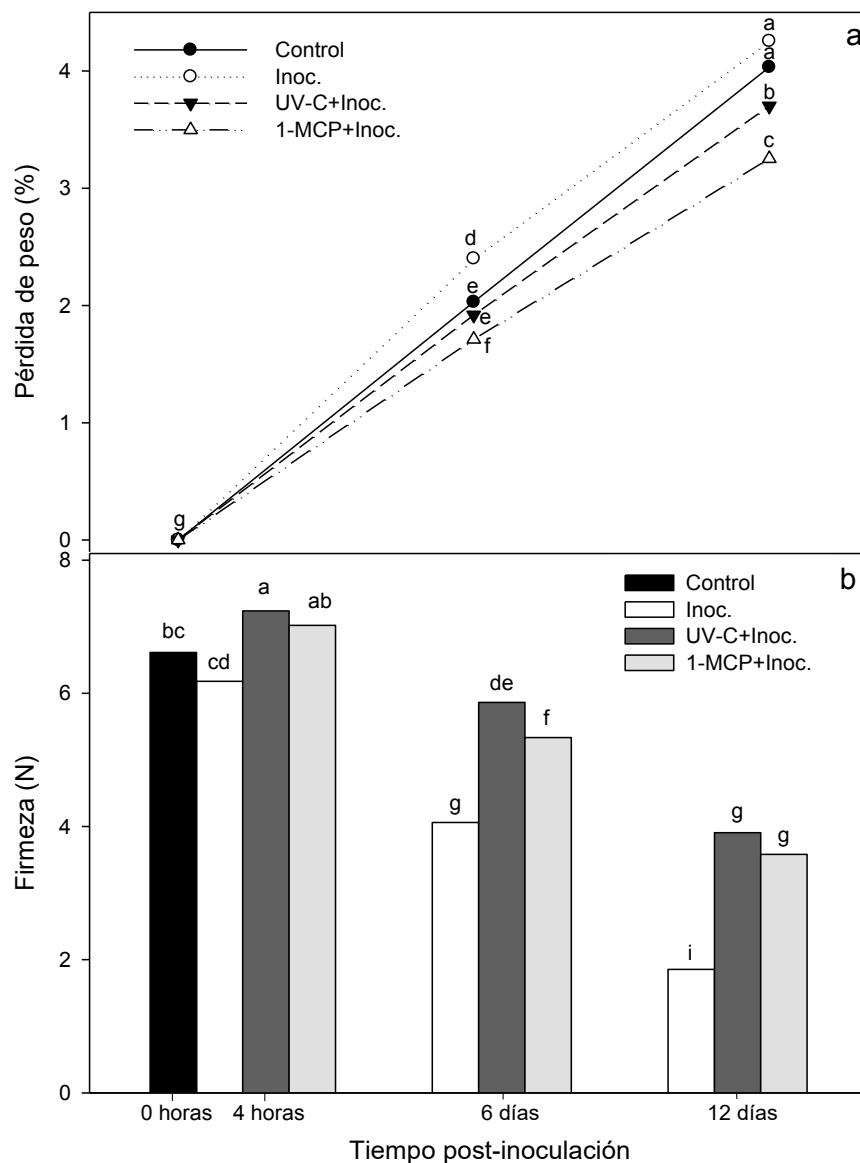


Figura IV.6 (a) Pérdida de peso y (b) firmeza de frutos control (sin inoculación), frutos inoculados, frutos tratados con radiación UV-C ($9,5 \text{ kJ/m}^2$) y 1-MCP ($0,5 \text{ }\mu\text{L/L}$ - 8h) y posterior inoculación con *Fusarium polyphialidicum*, y almacenados a temperatura ambiente por 6 y 12 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$

Investigaciones en plantas modelo de estudio, como *Arabidopsis* y tomate, han permitido dilucidar los mecanismos de defensa relacionados con la resistencia frente al ataque de patógenos. Se sabe que en este proceso están involucrados la acumulación de fitoalexinas y acción de enzimas como quitinasas y β -1,3-glucanasas, además de la activación de genes relacionados con el metabolismo fenilpropanoide existiendo acumulación de flavonoides; en cítricos además se ha podido observar que existen cambios

en el perfil fenólico de diferentes zonas del fruto (albedo y flavedo) (Ballester et al., 2013; Ballester et al., 2013a).

Desde hace varios años se estudian las respuestas de las plantas y su susceptibilidad o resistencia frente a la interacción planta-patógeno. Una de las primeras respuestas es el incremento de las EROs (Apel y Hirt, 2004) activando un sistema de defensa antioxidante que precede a la síntesis de compuestos antimicrobianos, cambios en la actividad de enzimas de metabolismo de proteínas y de pared celular y también a la activación de genes específicos que codifican actividades de enzimas como quitinasas, glucanasas y peroxidasas (Ballester et al., 2006; Xu et al., 2017). No obstante, cada sistema biológico presentará una respuesta propia relacionada con la inducción de resistencia al ataque fúngico, la cual puede diferir por ser un producto frutihortícola diferente o porque el microorganismo tenga una forma particular de infectar. Por tanto, las interacciones planta-patógeno deben ser analizadas en detalle.

IV.3. Efecto del pretratamiento con radiación UV-C y 1-MCP sobre residuo insoluble en alcohol (RIA) y el contenido de ácidos urónicos (AU) y azúcares neutros (AN)

La epidermis es el tejido que cubre todos los órganos de las plantas y está conformado por la cutícula que es un complejo heterogéneo natural compuesto por ceras epicuticulares formando una matriz denominada cutina. Una fracción de los polisacáridos de la pared celular (celulosa, hemicelulosa y pectina ligados a proteínas estructurales especializadas) de las células epidérmicas se encuentran inmersos en la estructura de la cutícula por lo que se consideran parte de ella formando una capa o matriz cuticular (Sapers et al., 2006; Segado et al., 2016). La composición de la fracción de los polisacáridos de la pared celular varía entre especies, estados de desarrollo y depende del grado de relación entre la matriz de la cutina y la pared celular (López-Casado et al., 2007).

Desde hace varios años se registran estudios sobre la composición química, propiedades mecánicas y funciones de la cutícula o matriz cuticular, así como su rol en la calidad de la fruta durante la poscosecha (Yeats y Rose, 2013; Martin y Rose, 2014). Dentro de las principales funciones se describen: actuar como una barrera primaria entre la atmósfera y la planta, prevención de la pérdida de agua, regulación del intercambio gaseoso, protección contra el daño mecánico, protección frente a la radiación UV y frente a la invasión de patógenos (Redieres y Muller, 2006; Segado et al., 2016). Como parte del mecanismo de infección por hongos patógenos se produce la secreción de cutinasas, estas enzimas estarían involucradas en la penetración de la cutícula (Isaacson et al., 2009). Por otro lado, la pared celular de los hongos filamentosos está compuesta básicamente de glicoproteínas y polisacáridos, entre estos últimos

destacan la quitina (N-acetil glucosamina), el glucano (constituido de glucosa) y el manano o galactomanano, y particularmente no poseen pectinas (Pontón, 2008).

En la **Tabla IV.1** se indican los valores del RIA y el contenido de AU y AN de los frutos inoculados y pretratados con radiación UV-C y 1-MCP e inoculados posteriormente hasta los 6 dpi, dado el gran avance de la infección a los 12 dpi que presentaban los frutos inoculados. En general, durante el almacenamiento de productos frutihortícolas se observa una reducción del contenido de RIA junto con un aumento del ablandamiento (Massolo, 2015). En contraste, en las naranjillas inoculadas y pretratadas se produjo un incremento del contenido de RIA a los 6 dpi. La determinación del RIA es un indicador del contenido de pared celular que incluye pectinas, celulosa y hemicelulosa (Rosli, 2007), al que se debe añadir el contenido de sustancias insolubles en el alcohol que son aportadas por la pared celular del hongo. Debido a ello es que se produciría el incremento del RIA a los 6 dpi.

Tabla IV.1 Aislamiento de pared celular (residuo insoluble en alcohol -RIA-) y el contenido de ácidos urónicos y azúcares neutros totales en frutos control (sin inocular), inoculados y frutos pretratados con radiación UV-C (9,5 kJ/m²) o 1-MCP (0,5 µL/L - 8h) y almacenados a temperatura ambiente por 6 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de P < 0,05

Tratamiento		Tiempo post-inoculación			LSD Fisher
		0 h	4 h	6 días	
RIA (g/g tej. seco)	Control	0,393 ± 0,028 ^a			0,049
	Inoc.		0,375 ± 0,007 ^a	0,419 ± 0,030 ^a	
	UV-C+Inoc.		0,389 ± 0,024 ^a	0,417 ± 0,038 ^a	
	1-MCP+Inoc.		0,391 ± 0,008 ^a	0,399 ± 0,001 ^a	
Acidos urónicos (g/kg tej. seco)	Control	38,2 ± 0,4 ^{bc}			3,77
	Inoc.		33,9 ± 1,2 ^d	34,9 ± 1,1 ^{cd}	
	UV-C+Inoc.		36,4 ± 1,1 ^{cd}	44,2 ± 1,4 ^a	
	1-MCP+Inoc.		41,2 ± 2,9 ^{ab}	41,2 ± 2,7 ^{ab}	
Azúcares neutros (g/kg tej. seco)	Control	155,1 ± 7,0 ^{abc}			28,22
	Inoc.		124,6 ± 5,0 ^d	170,3 ± 15,0 ^{ab}	
	UV-C+Inoc.		141,5 ± 3,1 ^{cd}	147,6 ± 3,8 ^{bcd}	
	1-MCP+Inoc.		144,2 ± 4,2 ^{bcd}	180,8 ± 29,3 ^a	

El contenido de AU nos estaría indicando la solubilización de pectinas, hecho que se produce conforme el tejido va madurando y/o se va ablandando (Rodoni et al., 2010). Sin embargo, los frutos inoculados y que se ablandaron tuvieron gran influencia de la población de hongos que, al no poseer pectinas, mostraron una constancia de los valores de AU hacia los 6 dpi. Los frutos tratados e inoculados

mostraron valores mayores ya que lentificaron el avance de los microorganismos y mantuvieron un tejido más firme como se observó en la **Figura IV.6b**.

Por otro lado, el contenido de AN indicaría la solubilización de hemicelulosa de la pared celular (Rodoni et al., 2010). Los frutos inoculados incrementaron notablemente estos valores debido a la presencia de hongos y deterioro del tejido a los 6 dpi, mientras que los frutos pretratados mantuvieron niveles relativamente constantes, denotando una mejor integridad del tejido.

Los cambios en la composición de la pared celular contribuyen al ablandamiento del fruto como producto de la degradación de los componentes de la pared (Cárdenas-Coronel et al., 2012). Los ácidos urónicos son los principales componentes de la pectina y este polisacárido, según explican Oliveira et al. (2009), cumple un rol importante en el desarrollo y en la respuesta de defensa de la planta. El incremento de AU y AN muestra la disolución de los carbohidratos de la pared celular (Pan et al., 2017) como resultado de las enzimas pectinolíticas producidas por el patógeno durante la invasión del tejido. Trabajos previos han demostrado un retraso en el ablandamiento de los productos tratados tanto con UV-C como con 1-MCP, lo que ayudaría a una mejor integridad del tejido y la consecuente mejor resistencia al ataque de patógenos. En este sentido, como parte de los mecanismos de respuesta al ataque de patógenos al fruto se encuentran diversas explicaciones. Pombo et al., (2009) encontraron en frutilla que el tratamiento con UV-C ha disminuido la transcripción de un conjunto de genes implicados en la degradación de la pared celular, durante las primeras horas después del tratamiento. He et al. (2016), explican que la reducción de la incidencia de la enfermedad producida por el ataque de hongos puede estar asociada con la retención de la firmeza del fruto debido a la supresión de la degradación de pectina. Por otro lado, Xu et al. (2017) demostraron en un ensayo *in vitro* una distribución anormal y degradación de mitocondrias en las esporas de *Colletotrichum gloeosporioides*, así como acumulación de EROs producidos por la exposición a 1-MCP. En tanto que, Zhang et al. (2012), proponen que el control del desarrollo de microorganismos sería debido a la alta toxicidad de los polímeros de quininas resultado de la oxidación de compuestos fenólicos sintetizados vía fenilpropanoide en las que están involucradas las enzimas PAL y PPO, cuya actividad es modificada por efecto del 1-MCP.

IV.4. Efecto del pretratamiento con radiación UV-C y 1-MCP sobre el contenido de fenoles totales (FT) y actividad enzimática de fenilalanina-amonio-liasas (PAL), polifenol oxidasa (PPO) y peroxidasa (POX) en naranjilla inoculada con *Fusarium polyphialidicum*

La producción de EROs es una de las primeras respuestas celulares tras el reconocimiento de un patógeno (Torres et al., 2006); y como se ha explicado anteriormente, en el control de las EROs están involucradas enzimas como CAT, SOD y peroxidasas. Por otro lado, el metabolismo fenilpropanoide también se ha asociado con la interacción fruta-patógeno siendo ampliamente estudiado (Dixon y Paiva, 1995; Arcas et al., 2000). La enzima PAL cataliza las primeras reacciones de biosíntesis de fenilpropanoides y participa en el sistema de defensa de las plantas frente a patógenos y como producto de esta vía metabólica se sintetizan metabolitos secundarios (polifenoles) como ácido gálico, ácido cinámico, ácido clorogénico, entre otros (Chérif et al, 2007).

Se determinó el contenido de FT aproximadamente 4 h después de la inoculación de los frutos de naranjilla (**Figura IV.7a**). Se observó un incremento del 33% de FT en los frutos inoculados, mientras que en los frutos pretratados este incremento fue de 25% (radiación UV-C) y 42% (1-MCP) respecto a los frutos controles no inoculados cuyo contenido inicial de FT fue de 243,5 µg ác. gálico/g tej. Durante el periodo de ensayo, el contenido de FT aumentó significativamente en todas las muestras llegando a presentar valores similares (~570 µg. ác. gálico/g tej.) a los 12 dpi.

La actividad de la enzima PAL se incrementó con el pretratamiento con radiación UV-C y 1-MCP y la posterior inoculación de *F. polyphialidicum* en la naranjilla (**Figura IV.7b**). Los frutos inoculados mostraron un aumento de 7,9 UEA respecto a las muestras control cuya actividad inicial fue 18,1 UAE/mg prot., mientras que en las muestras pretratadas este incremento fue de 16 y 21 UEA (para los tratamientos UV-C y 1-MCP, respectivamente) que se correspondió con el aumento del contenido de FT. A los 12 dpi los frutos inoculados presentaron aproximadamente 30% mayor actividad enzimática en relación a las muestras pretratadas y entre estas últimas no se encontró diferencia significativa. En comparación con el inicio del experimento (4 h después de la inoculación) los frutos inoculados mostraron un incremento de 160 UEA, mientras que en los frutos tratados con UV-C y los expuestos al 1-MCP presentaron un aumento similar entre ellos y fue de sólo 89 UEA, denotando que los tratamientos incidieron en la respuesta de PAL y que la misma no estaría mediada por el etileno.

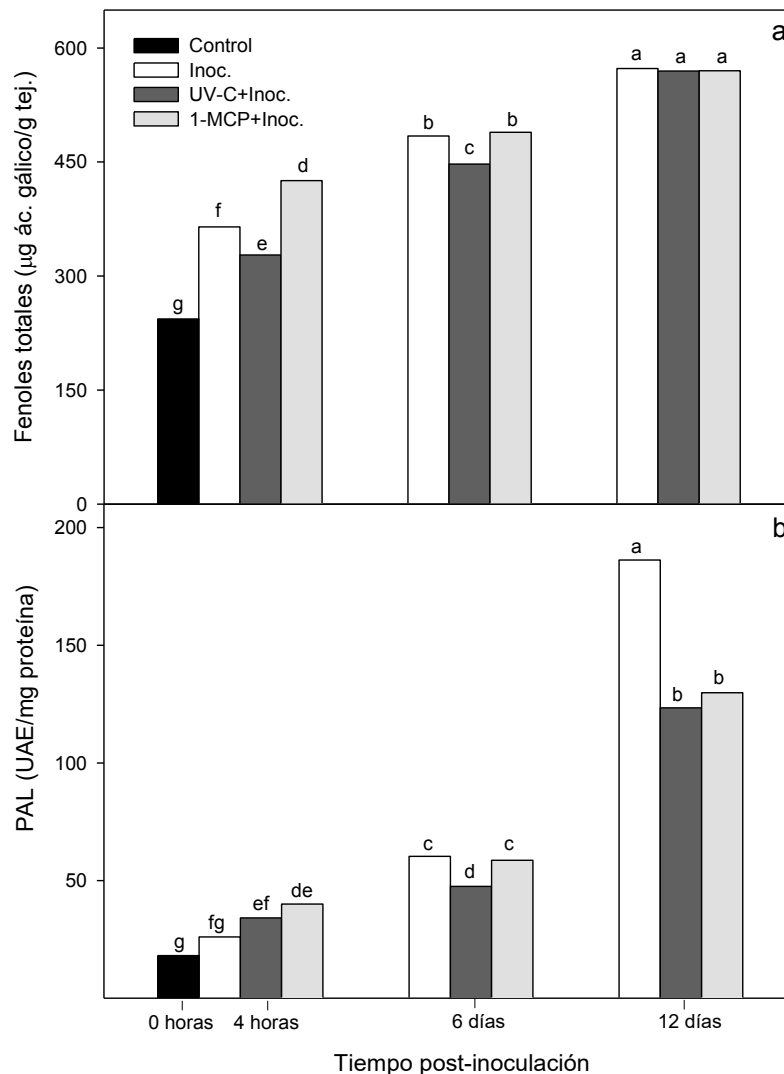


Figura IV.7 Contenido de fenoles y actividad enzimática de fenilalanina amoníaco-líasa (PAL) en frutos control (sin inoculación), frutos inoculados, frutos pretratados con radiación UV-C ($9,5 \text{ kJ/m}^2$) y 1-MCP ($0,5 \text{ } \mu\text{L/L}$ - 8h) y posterior inoculación con *Fusarium polyphialidicum*, y almacenados a temperatura ambiente por 6 y 12 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$

La enzima PAL posee una rápida respuesta a factores de estrés. Pombo et al. (2011) hallaron en frutilla un aumento de la actividad PAL de manera inmediata al tratamiento con radiación UV-C. Al igual que en el presente estudio, la inoculación de bananas con *F. oxysporum* indujo la actividad de PAL indicando

que está directamente relacionada con la resistencia al ataque de patógenos (Wang et al., 2016). La respuesta de defensa ante el estrés biótico, en plantas resistentes, se caracteriza por una rápida y temprana acumulación de compuestos fenólicos en el sitio de la infección resultando en un aislamiento localizado del patógeno (Chérif et al., 2007). Los compuestos fenólicos sintetizados luego del ataque de patógenos a la planta incluyen fitoalexinas, moléculas vinculadas específicamente con el sistema de defensa de las plantas (De Ascensao y Dubrey, 2003; Palazón et al., 2001; Matern et al., 1995). Por otro lado, los frutos de naranjilla fueron sometidos a 2 tipos de estrés abiótico: UV-C y 1-MCP. La aplicación temprana de radiación UV-C en la poscosecha está asociada a la proliferación de EROs y la consecuente alteración del metabolismo secundario, por lo que el tejido desarrolla un mecanismo de defensa que conduce a la expresión de genes relacionados con la síntesis de compuestos fenólicos y su inmediata acumulación durante el almacenamiento (Jagadeesh et al., 2009; Liu et al., 2012; González-Aguilar et al., 2007). Nigro et al., (2000) demostraron que luego de un tratamiento con radiación UV-C en frutillas también se producía un incremento de etileno ya a las 4 h post-tratamiento, y que el incremento del mismo era proporcional a la dosis empleada. Sin embargo, en el presente trabajo, la similitud en el incremento de la actividad PAL y del contenido de FT en frutos pretratados tanto con UV-C como 1-MCP y luego inoculados nos estaría indicando que la respuesta de defensa al estrés (al menos la más rápida) se estaría activando por otra vía diferente a la del etileno, pudiendo ser aquella que involucra a las EROs como moléculas señal.

El aumento de la actividad de PAL en los frutos de naranjilla pretratados indica claramente que existiría activación del metabolismo fenilpropanoide y en consecuencia se produce la acumulación de compuestos fenólicos. Se observa una fuerte correlación entre la actividad de PAL y el contenido de FT (**Figura IV.8**). Se encontraron valores de r de 0.93 y 0.92 para las muestras pretratados con radiación UV-C y 1-MCP, respectivamente, mientras que la mejor correlación se obtuvo en los frutos inoculados ($r=0.96$). Los compuestos fenólicos poseen actividad antimicrobiana y pueden inactivar toxinas y enzimas de degradación de pared celular secretadas por el hongo reduciendo la severidad del daño (Porto-Pinto et al., 2016; Jagadeesh, 2007; Bravo et al., 2012). Sin embargo, en el caso estudiado aquí, no se observó un aumento mayor del contenido de FT en los frutos pretratados que explicara la menor incidencia de la infección con *Fusarium polyphialidicum*. Esto nos llevaría a pensar que en naranjilla la invasión del patógeno sea acotada mayoritariamente por otro factor, o que los compuestos fenólicos se consumen a la misma velocidad que se producen sin llegar a acumularse en mayor medida que en los frutos inoculados solamente.

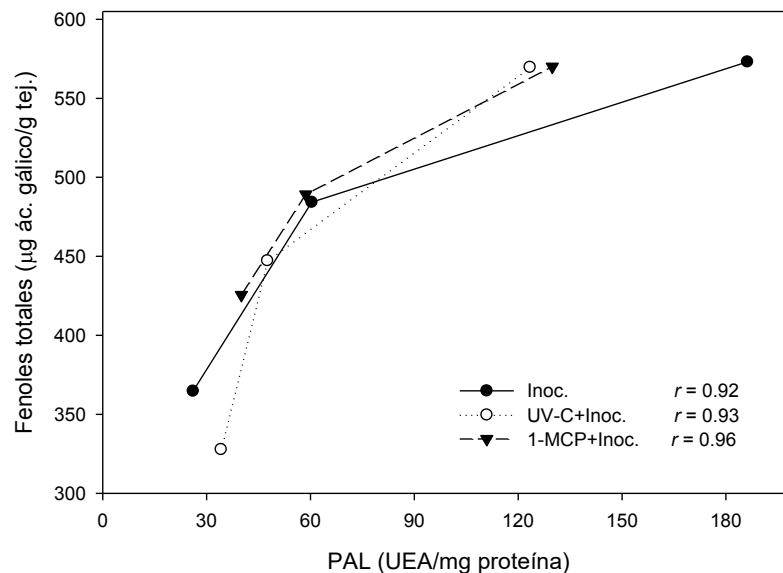


Figura IV.8 Correlación entre el contenido de fenoles y actividad enzimática de fenilalanina amonía-liasa (PAL) en frutos inoculados, frutos pretratados con radiación UV-C (9,5 kJ/m²) y 1-MCP (0,5 µL/L - 8h), y almacenados a temperatura ambiente por 6 y 12 días r = coeficiente de correlación de Pearson

Por otro lado, se ha comprobado que la exposición de tejidos a estrés de tipo abiótico y biótico induce la actividad enzimática de PPO y POX que también se han asociado con el sistema de defensa del fruto frente al ataque de patógenos (Massolo et al., 2011; Concellón et al., 2004, Pombo et al., 2011). Las enzimas PPO y POX emplean compuestos fenólicos como sustratos y sus actividades se asocian al pardeamiento enzimático con la consecuente aparición de pigmentos pardos, en tanto que la actividad de POX se asocia también con el proceso de lignificación (Rocha y Moraes, 2001; Aquino-Bolaños y Mercado-Silva, 2004; Brandelli y Lopes, 2005).

En la **Figura IV.9a** se puede observar que 4 h después de la inoculación y de los pretratamientos con radiación UV-C y 1-MCP la actividad de PPO se vio significativamente aumentada respecto de los frutos control. Dicho incremento fue de 26,6 UEA en frutos pretratados con radiación UV-C y \approx 8 UEA en frutos inoculados y pretratados con 1-MCP; indicando una rápida y mayor respuesta al estrés por UV-C. Esta diferencia en la respuesta al UV-C se mantuvo a lo largo del almacenamiento refrigerado, mientras que los frutos pretratados con 1-MCP disminuyeron su actividad PPO respecto de los frutos que sólo fueron inoculados, indicando que el etileno podría estar relacionado con la activación de la actividad PPO ante el estrés biótico, sobre todo a tiempos prolongados.

En cuanto a la actividad de POX (**Figura IV.9b**), se observó un patrón de comportamiento algo diferente a lo hallado para PPO. Así, se observó luego de 4 h un incremento de 1,3 UEA de la actividad POX en

frutos inoculados, mientras que el aumento fue de 7,2 y 5,4 UEA para los pretratados con UV-C y 1-MCP, respectivamente. Durante el almacenamiento, los frutos pretratados con 1-MCP mantuvieron la mayor actividad POX, demostrando en este caso que la respuesta de la enzima POX sería independiente del etileno.

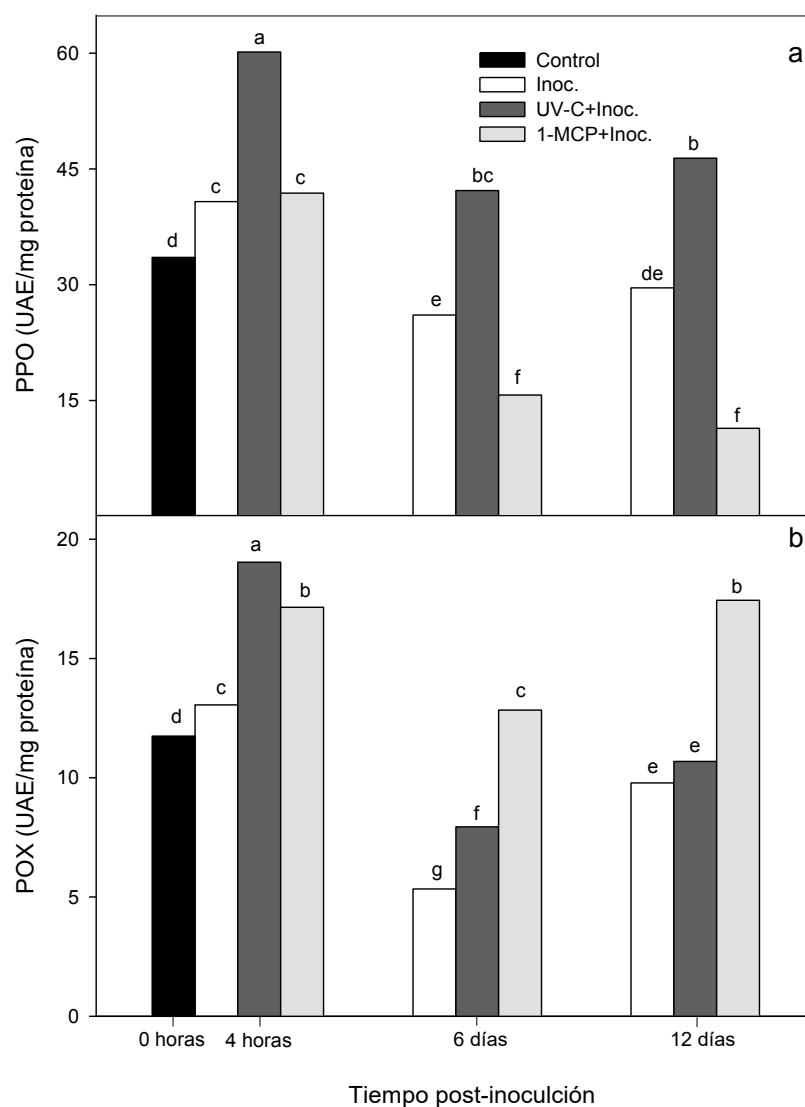


Figura IV.9 Actividad específica de las enzimas (a) polifenol oxidasa -PPO- y (b) peroxidasa -POX- en frutos control (sin inoculación), frutos inoculados, frutos pretratados con radiación UV-C (9,5 kJ/m²) y 1-MCP (0,5 µL/L- 8h) y posterior inoculación con *Fusarium polyphialidicum*, y almacenados a temperatura ambiente por 6 y 12 días. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$

Al igual que en el presente estudio, la actividad de PPO y POX se indujo en respuesta a la infección de semillas de trigo con *F. graminearum* y *F. colmorum* (Mohammadi y Kazemi, 2002; Motallebi et al., 2016)

y en bananas inoculadas con *F. oxysporum* (Dong et al., 2016). En tanto que, frutos de jujube tratados con 1-MCP e inoculados con *P. expansum* no mostraron diferencia de actividad de PPO respecto a los frutos no inoculados (Zhang et al., 2012).

Varios estudios han determinado el contenido de FT y su relación con las actividades de PPO y POX, encontrándose un incremento de actividad enzimática durante el almacenamiento de productos frutihortícolas enteros y mínimamente procesados sin hallar una fuerte correlación con la disminución de FT. Pombo et al., (2011) hallaron una respuesta más rápida de la actividad de POX y no tanto de PPO luego de tratar frutillas con radiación UV-C. Es de resaltar que la síntesis y acumulación de compuestos fenólicos luego de la exposición a un estrés podría ejercer un efecto indirecto en la defensa y/o protección del fruto y otorgar sustratos a PPO. Uno de los roles propuestos en la defensa de las plantas para los productos de reacción de PPO (las quinonas) es su acción como compuestos antibacterianos y antifúngicos (Yoruk y Marshall, 2003). Esto está de acuerdo con una mayor resistencia bacteriana hallada en tomates transgénicos que sobre-expresan PPO (Li y Steffens, 2002).

Normalmente los FT acumulados pasan a ser el sustrato de reacciones de oxidación mediadas por enzimas como PPO y POX, por lo que poseen una relación inversa. En esta investigación se encontró una correlación negativa entre el contenido de FT y la actividad de las enzimas PPO y POX (**Tabla VI.2**), pero los coeficientes son algo bajos en general, excepto para FT y actividad PPO de frutos pretratados con 1-MCP e inoculados. En general estos resultados posiblemente estén relacionados con la diferente compartimentalización entre estas enzimas y los sustratos o FT, y/o distribución de los mismos que varía según la estructura de cada producto (Schadel y Walter, 1981), teniendo presente que debiera existir ruptura celular para que los mismos entren en contacto.

Tabla IV.2 Correlación entre el contenido de fenoles y actividad enzimática de fenilalanina amonioliasa (PAL,) polifenol oxidasa (PPO) y peroxidasa (POX) en frutos inoculados y pretratados con radiación UV-C (9,5 kJ/m²) y 1-MCP (0,5 µL/L - 8h), y almacenados a temperatura ambiente por 6 y 12 días

Enzima	Fenoles totales		
	$r_{\text{inoculación}}$	$r_{\text{UV-C+Inoc.}}$	$r_{\text{1-MCP+Inoc.}}$
PPO	-0,78	-0,72	-0,90
POX	-0,50	-0,72	0,13

r = coeficiente de correlación de Pearson

Según explica Motallebi et al. (2016) las enzimas y compuestos involucrados directamente en detener el desarrollo de patógenos pueden actuar de dos formas diferentes: a) producir la muerte celular cerca del

sitio de infección para prevenir el avance de patógeno, y b) generar un ambiente tóxico que inhibe el crecimiento del patógeno de la célula. En este sentido, el análisis realizado limitado a la determinación de las enzimas PAL, PPO y POX, así como la cuantificación de FT indican que los pretratamientos con luz UV-C y 1-MCP indujeron mayor actividad enzimática de biosíntesis (PAL) y degradación (PPO, POX) a tiempos cortos (4h) a comparación de los frutos inoculados y de los controles no inoculados. Este comportamiento sugiere un rol importante de estas tecnologías para la rápida inducción de resistencia del fruto frente al ataque producido por el hongo, y que a tiempos cortos no pareciera estar mediada por el etileno.

IV.5. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES (PCA)

Con el fin de determinar las correlaciones entre las variables analizadas en la naranjilla inoculada con *F. polyphialidicum* (firmeza, pérdida de peso, halo de infección interno y externo, residuo soluble en alcohol -RIA-, azúcares neutros -AN-, ácidos urónicos -AU- y actividades enzimáticas de PAL, PPO, POX y contenido de FT) y los pretratamientos (UV-C y 1-MCP), las medidas de laboratorio fueron sometidas al PCA. La **Tabla VI.3** indica los valores propios de cada variable, es decir las varianzas de los componentes principales (PC), el porcentaje total de varianza y la proporción acumulada de la variabilidad de la muestra. Según el criterio de Kaiser (Irwing et al., 2018) se selecciona un número de PC cuyos valores propios sean mayores a 1.

En este trabajo se realizó el análisis con tres y cuatro PCs y se determinaron tres PC que juntos explican el 84,18 % de la variación total en las variables analizadas. Se descartó el análisis de cuatro PCs debido a que ninguna variable de análisis mostró correlación con el cuarto PC según el análisis de varianzas individuales. Las varianzas de las variables que describen cada PC se indican en la **Tabla VI.4**, las que representan más del 50% ($|\geq 0.50|$) fueron consideradas las más importantes para cada PC.

Tabla IV.3 Valor propio, varianza total y acumulada de las variables utilizadas para la determinación de los componentes principales. (Valor resaltado con rojo: varianza acumulada para 3 PC)

Número valor	Valor propio	Varianza total (%)	Acumulada (%)
1	6,71	55,93	55,93
2	2,36	19,68	75,62
3	1,02	8,56	84,18
4	0,81	6,82	91,01
5	0,42	3,52	94,54
6	0,26	2,18	96,72
7	0,18	1,51	98,23
8	0,10	0,90	99,14
9	0,05	0,45	99,60
10	0,02	0,21	99,81
11	0,01	0,12	99,93
12	0,01	0,06	100,00

Tabla IV.4 Varianzas de los tres componentes (factores) determinados por PCA (valor resaltado en rojo: coordenadas factoriales para cada variable)

VARIABLE	Factor 1	Factor 2	Factor 3
Pretratamiento	0,94	0,05	0,01
PAL	0,67	-0,70	0,03
PPO	-0,47	-0,66	0,11
POX	-0,31	-0,79	-0,15
FT	0,87	0,03	0,01
Firmeza	-0,86	-0,00	-0,10
Pérdida peso	0,21	-0,07	-0,95
Halo interno	0,73	-0,55	-0,07
Halo externo	0,77	-0,54	0,23
RIA	-0,89	-0,25	0,02
AU	-0,89	-0,25	0,01
AN	-0,85	-0,24	0,02

Según se muestra en la **Figura IV.10** la variación de los datos de los dos primeros PC presentan valores de 55,93 % y 19,69 % para el PC1 (factor 1) y PC2 (factor 2), respectivamente. El PC1 está directamente relacionado con cuatro aspectos evaluados: el pretratamiento, el contenido de FT, la composición química de la pared celular (RIA, AU y AN) y los parámetros físicos como la firmeza y los halos de infección interno y externo que pueden considerarse como una consecuencia de los cambios bioquímicos ocurridos a nivel subcelular. El 10,45 % de variabilidad que explica el PC2 está cercanamente relacionado con las enzimas del metabolismo del ciclo fenilpropanoide (PAL, PPO y POX), en tanto que el PC3 muestra estrecha relación únicamente con pérdida de peso y explica una variabilidad de los datos del 8,56 %.

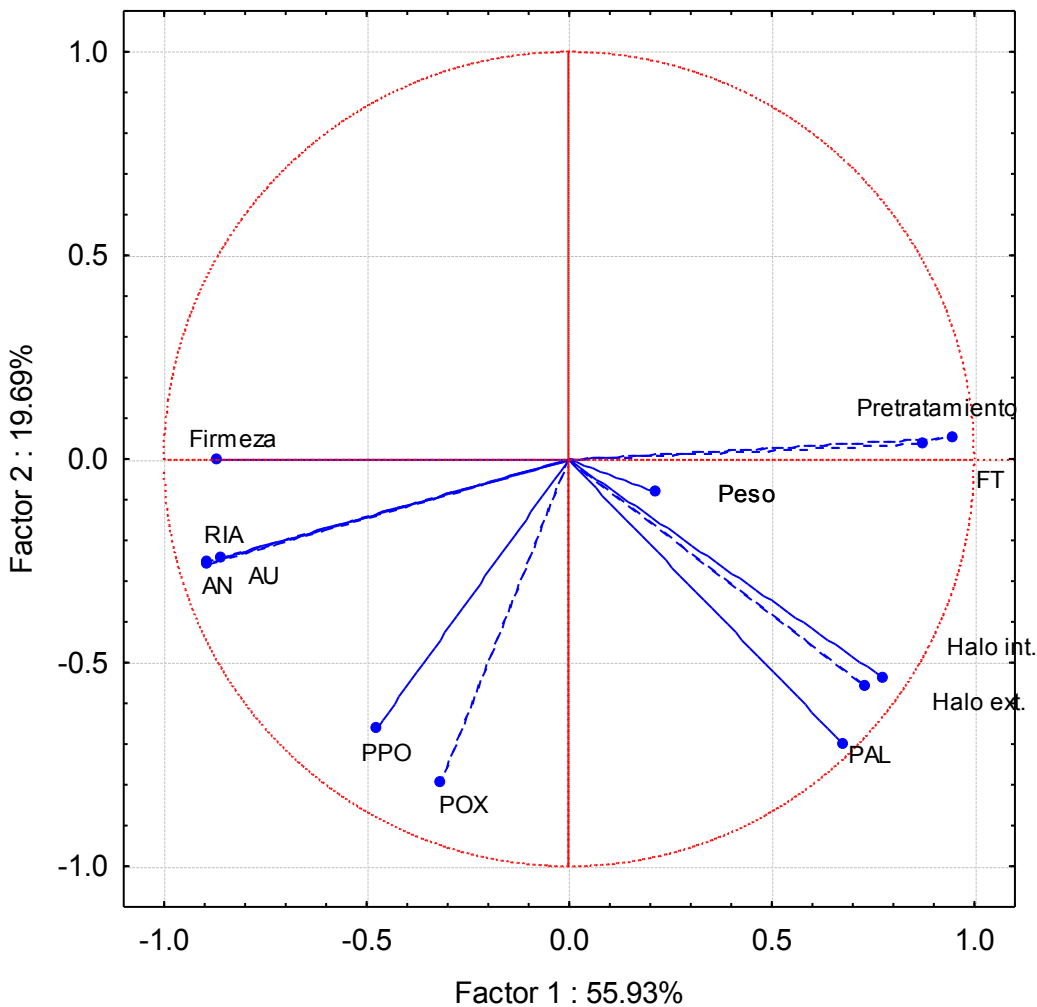


Figura IV.10 Mapa de similitud del análisis de componentes principales (PCA) de los dos primeros componentes principales que muestra la correlación entre la pérdida de peso, halo de infección interno y externo, firmeza, contenido de fenoles totales y proteínas, residuo insoluble en alcohol (RIA), azúcares neutros (AN), ácidos urónicos (AU) y actividad enzimática de PPO, PPO y POX en frutos inoculados y pretratados con radiación UV-C (9,5 kJ/m²) y 1-MCP (0,5 µL/L 8h)

Hay dos grupos de variables formadas por pretratamiento y FT y por firmeza (con valores próximo a 1 y -1, respectivamente) que indican que hay una correlación cercana a -1 entre ambos grupos de variables, es decir que, si una de estas variables aumenta su valor sobre uno de los grupos, ese mismo grupo de variables disminuye sobre el otro. Además, las varianzas de cada variable cercanas a 1 (en valor absoluto) establecen una clasificación de los individuos sobre este primer eje el orden de los valores crecientes o decrecientes respectivamente sobre los dos grupos de variables.

También se observan tres grupos de variables correlacionadas entre sí: (1) el contenido de pared celular -RIA, AU y AN, (2) PPO y POX y (3) PAL y los halos externo e interno. Todas se encuentran muy cerca del borde y están muy bien representadas sobre el plano formado por los dos ejes. Los dos primeros grupos presentan una correlación alta (no cercana a -1) con la variable firmeza y el tercer grupo con las variables pretratamiento y FT. La variable pérdida de peso no está correlacionada con los dos grupos de variables.

La distribución de las muestras debido a los PC1 (factor 1) y PC2 (factor 2) se muestra en la **Figura IV.11**. Se observa claramente la influencia del pretratamiento aplicado. Se obtuvieron tres clusters diferenciados mayoritariamente por el PC1. El primer cluster, con valores positivos se describe por muestras inoculadas y pretratadas con UV-C y 1-MCP correspondientes a 12 dpi. El segundo cluster, con valores cercanos a 0 se describe por las muestras control (día 0) e inoculadas y pretratadas con radiación UV-C y 1-MCP correspondientes a los 0 y 6 dpi, las muestras con 6 dpi pertenecen a un mismo subcluster. Finalmente, el tercer cluster diferenciado y separado del resto de muestras, con valores positivos respecto al PC2 corresponde a las muestras control con 6 y 12 dpi.

Las elipses representadas en la **Figura IV.11** indican claramente la diferencia entre los días post-inoculación y confirman las diferencias encontradas en el análisis de varianza realizado con los resultados de los análisis experimentales, principalmente se diferencian las elipses correspondientes al pretratamiento con radiación UV-C respecto a las muestras inoculadas en tanto que las muestras pretratadas con 1-MCP presentan solapamiento con las inoculadas. A través del PCA se pudo determinar que todas las variables analizadas (pérdida de peso, halo de infección interno y externo, firmeza, contenido de fenoles totales, RIA, AN y UA) y actividad enzimática de fenilalanina amonioliasa, polifenol oxidasa y peroxidasa) permiten evaluar el efecto de los pretratamientos (UV-C y 1-MCP) sobre la respuesta fisiológica de la naranjilla frente al ataque con *F. polyphialidicum*. Los resultados obtenidos pueden ser complementados con análisis de perfiles de metabolitos en los que el PCA es una herramienta útil para poder determinar diferencias para confirmar la efectividad de los tratamientos poscosecha sobre el control del desarrollo de patógenos en la fruta durante la etapa poscosecha.

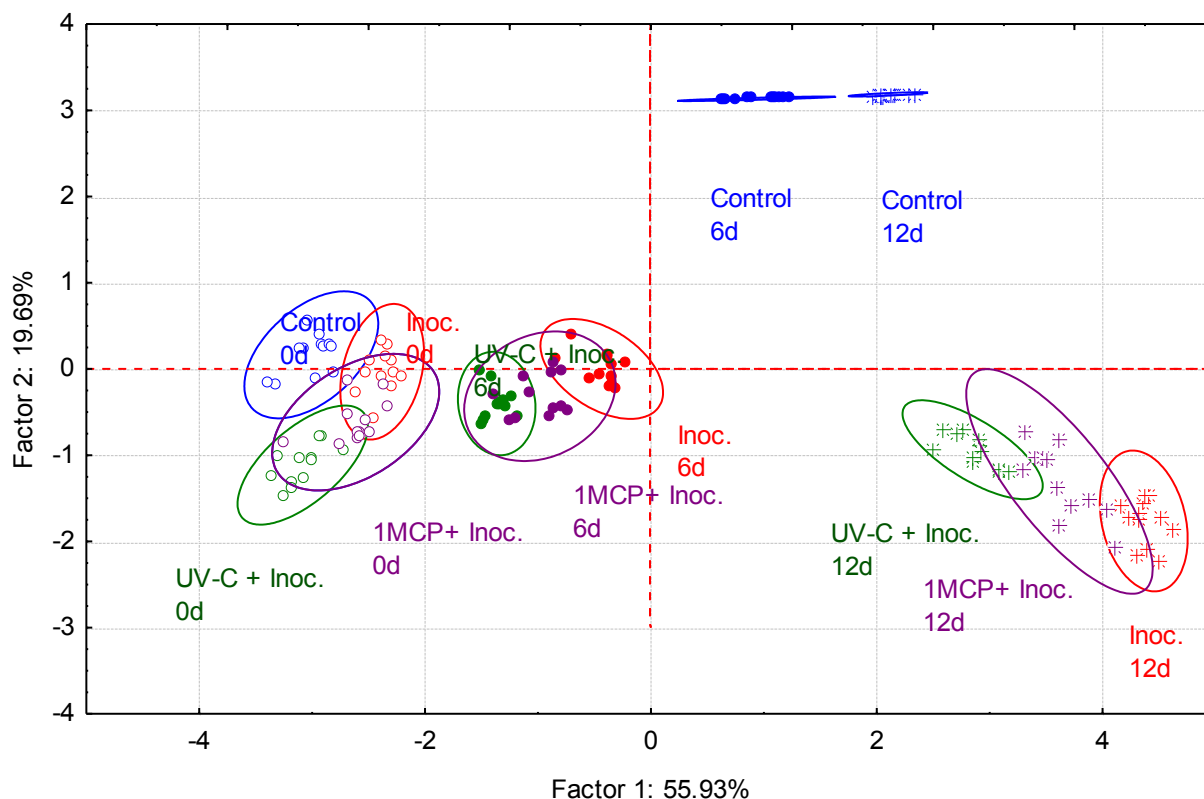


Figura IV.11 Análisis de componentes principales (PCA) de los dos primeros componentes principales que muestra la correlación entre las características físicoquímicas (pérdida de peso, halo de infección interno y externo, firmeza, FT, RIA, AN, AU) y actividad enzimática (PAL, PPO y POX) y el tiempo post-inoculación (día 0 -o-; día 6 --●-; día 12 -*-) en frutos control (azul), inoculados (rojo) y frutos pretratados con radiación UV-C (9,5 kJ/m² -verde-) y 1-MCP (0,5 µL/L - 8h -morado-) y posterior inoculación

IV. CONCLUSIONES

Se aisló la flora nativa de la naranjilla cv Baeza y se halló un hongo mayoritario. Los resultados del análisis morfológico y molecular permitieron identificar a la especie *Fusarium polyphialidicum*. Las pérdidas poscosecha producidas por este hongo filamentoso se dieron por su crecimiento en el cáliz y posterior invasión al mesocarpo y endocarpo del fruto a tiempos prolongados de almacenamiento.

Se aplicaron las tecnologías poscosecha analizadas en los capítulos anteriores y luego se inoculó con el hongo mencionado. La radiación UV-C (9,5 kJ/m²) presentó mayor efectividad que el 1-MCP (0,5 µL/L - 8h) en cuanto al control del desarrollo de *F. polyphialidicum*. Más allá de esto, los frutos pretratados por ambas tecnologías presentaron menor severidad de daño del tejido evidenciada por un menor halo de infección externo e interno y menor pérdida de peso y firmeza, lo cual indicaría que la respuesta de naranjilla ante el estrés biótico no estaría siendo mediada sólo por el etileno.

Luego de 4h de efectuado tanto la inoculación como el pretratamiento con ambas tecnologías e inoculación, se observaron respuestas similares entre pretratamientos que implicaron un incremento de la actividad PAL y síntesis de compuestos fenólicos, como así también un incremento de enzimas que metabolizan estos compuestos, tales como PPO y POX. Esto indicaría, como se mencionó anteriormente, que la respuesta de defensa de la naranjilla no estaría siendo mediada por etileno, al menos a tiempos cortos post-inoculación.

Por otro lado, a tiempos más prolongados la actividad de PAL de frutos pretratados disminuyó por debajo de los valores de frutos sólo inoculados, denotando que el aumento a tiempos cortos (4h) es transitorio y que no se mantiene en el tiempo. En tanto, la disminución de la actividad de PPO durante el almacenamiento en frutos pretratados con 1-MCP respecto de los inoculados y los pretratados con UV-C indicaría una dependencia de la actividad de esta enzima con la señal mediada por el etileno. No así para la enzima POX que mostró los mayores niveles de actividad en frutos pretratados con 1-MCP durante el almacenamiento.

Bajo las condiciones de ensayo, la aplicación de $9,5 \text{ kJ/m}^2$ de radiación UV-C y la exposición a $0,5 \text{ }\mu\text{L/L}$ - 8h de 1-MCP en naranjilla actuarían como agentes horméticos alterando la susceptibilidad al ataque fúngico producido por la infección de *F. polyphialidicum* que claramente produce diferencias entre las muestras control, inoculadas y pretratadas-inoculadas. A su vez, los resultados alcanzados estarían indicando que la respuesta de los frutos de naranjilla ante este estrés biótico no estaría siendo mediada sólo por el etileno, ya que ambos tratamientos fueron efectivos en el control de la infección.

El uso de la radiación UV-C ($9,5 \text{ kJ/m}^2$) y el 1-MCP ($0,5 \text{ }\mu\text{L/L}$ -8h) constituyen una opción para el control del crecimiento de hongos filamentosos durante la poscosecha de naranjilla, siendo tecnologías de bajo costo, que no dejan residuos en el producto y no provocan contaminación ambiental, diferenciándose así del uso de sustancias químicas.

Capítulo V



Elaboración de pan de molde enriquecido con naranjilla

*A la memoria de dos docentes que marcaron mi formación secundaria y de pregrado,
Dr. Patricio Miño y Dr. Oscar Luzuriaga*

...donde se encuentren, va por ustedes!

V. INTRODUCCIÓN

V.a. Enriquecimiento de productos panificados

El pan se ha constituido como la base de la dieta alimentaria en la mayoría de los países. Es un producto perecedero que se obtiene a través de la cocción de una mezcla de masa de harina, generalmente de trigo, sal comestible y agua potable, que ha sido fermentada por especies propias para panificación (Mesas y Alegre, 2002). Existe una amplia gama de derivados de productos panificados debido a que se adicionan otros productos para conceder diferentes cualidades y sabores. Así, desde hace unos años se empezaron a evaluar alternativas de agregado de semillas (amapola, chia, lino, quinoa, amaranto, sésamo, etc.), especias (orégano, albahaca, ajo, etc) y algunos vegetales (cebolla). Estudios relacionados con la preferencia de los consumidores de productos panificados indican que los atributos de los alimentos considerados previo a la decisión de compra incluyen inicialmente el precio, el color y atractivo visual, luego el sabor y textura, y finalmente la inocuidad y funcionalidad (Moslehpour et al., 2015). Así, se pueden obtener productos panificados de colores empleando como colorante natural al propio vegetal, sin el agregado de colorante artificial.

En el caso de los productos panificados que se han complementado con componentes con propiedades funcionales, se ha determinado que el suministro de información acerca de los efectos funcionales del producto influye positivamente en la calificación sensorial que un panel determinado pueda conceder al producto, impactando en la percepción de intensidades de características sensoriales. Desde este punto de vista, sería más fácil aumentar el consumo de alimentos panificados con propiedades funcionales (como el pan blanco con modificaciones) para ayudar en las funciones fisiológicas más allá de la provisión del requerimiento nutricional básico y generando un valor agregado a los componentes funcionales producidos en el procesamiento básico del pan, tal como en la etapa del horneado y su influencia en la formación pronil-lisina, un compuesto con actividad antioxidante (Dean et al., 2008).

A pesar de que las características funcionales pueden promover el consumo de un producto panificado, Bedolla-Bernal et al., (2004) señalan que los atributos de calidad más influyentes en el consumidor son la frescura, suavidad y el sabor; además se especifica como importantes los parámetros de volumen, textura y tamaño de miga.

La evaluación de la textura por parte del consumidor es subjetiva. En cambio, una medida objetiva de la misma emplea un equipamiento de laboratorio para medir la textura denominado texturómetro. Este equipo evalúa parámetros de dureza, cohesividad, elasticidad, resiliencia y consistencia (**Tabla V.1**)

cuantificados a partir de un análisis de perfil de textura (TPA); los parámetros de evaluación de la calidad del pan están basados en aspectos físicos que se correlacionan al aspecto sensorial.

La incidencia de un cambio en la formulación del producto de panificación base, puede afectar directamente en los parámetros establecidos en el perfil de textura (TPA) debido a la variabilidad en la estabilización de la matriz gluten-almidón (Gan et al., 1995).

Tabla V.1 Parámetros de perfil de textura (TPA) (Fuente: Hernandez Alarcón, 2005)

Parámetro	Cualidad Física	Cualidad Sensorial
Dureza	Fuerza necesaria para una deformación dada.	Fuerza requerida para comprimir una sustancia entre las muelas (sólidos) o entre la lengua y el paladar (semisólidos).
Cohesividad	Qué tanto puede deformarse un material antes de romperse.	Grado hasta el que se comprime una sustancia entre los dientes antes de romperse.
Viscosidad	Tasa de flujo por unidad de fuerza.	Fuerza requerida para pasar un líquido de una cuchara hacia la lengua.
Elasticidad	Tasa a la cual un material deformado regresa a su condición inicial después de retirar la fuerza deformante.	Grado hasta el cual regresa un producto a su forma original una vez que ha sido comprimido entre los dientes.
Adhesividad	Trabajo necesario para vencer las fuerzas de atracción entre la superficie del alimento y la superficie de los otros materiales con los que el alimento esté en contacto.	Fuerza requerida para retirar el material que se adhiere a la boca (generalmente el paladar) durante su consumo.

La propuesta de realizar cambios en las formulaciones tradicionales ha dado como resultado productos panificados que se basan en la sustitución total o parcial de la harina diferente a la utilizada comúnmente (trigo), por ejemplo: harina de algarrobo (Seczyk et al., 2016; Correa et al., 2017), harina de garbanzo (Moktan y Ojha, 2016), harina de chía (Silveira-Coelho y Salas-Mellado, 2015), entre otros. Por otro lado, se han obtenido productos panificados elaborados con componentes de vegetales (frutos y hortalizas, enteros y subproductos) tales como antocianinas extraídas a partir del arroz negro (Sui et al., 2016a). También se ha evaluado el uso de harina de piel de granada (Altunkaya et al., 2013), harina de pimiento amarillo (Danza et al., 2014), polvo de piel de mango (Pathak et al., 2016), extractos de té negro (Zhu et al., 2016), brotes de brócoli (Gawlik-Dziki et al., 2014) y hojas de quinoa (Sweica et al., 2014). Estos estudios se enfocan en la evaluación del potencial de bioaccesibilidad y biodisponibilidad ya que se ha comprobado que la suplementación del pan aumenta su potencial antioxidante (enzimático y no enzimático). Según señalan Sui et al. (2016), los componentes que aportan los vegetales utilizados en

las formulaciones han sido limitados como ingredientes activos en las matrices alimentarias procesadas, sin embargo, se ha demostrado que podrían mejorar la digestibilidad y elevar la fracción bioaccesible de este tipo de componentes en productos panificados.

V.b. Biodisponibilidad y bioaccesibilidad

La *bioaccesibilidad* es la cantidad o fracción de compuesto que es liberada a partir de la matriz alimentaria en el tracto gastrointestinal y se torna disponible para la absorción. Este proceso es generalmente evaluado por procedimientos de digestión *in vitro* que comúnmente simulan la digestión bucal, gástrica e intestinal (intestino delgado) (Carbonell et al., 2014).

La *biodisponibilidad* está definida como la eficacia o cantidad de sustancia que es digerida, absorbida y metabolizada, así se terminará distribuyendo por los diferentes tejidos donde genera su acción. La biodisponibilidad incluye la digestión gastrointestinal, absorción, metabolismo, distribución tisular y bioactividad de los compuestos activos de un producto (Carbonell et al., 2014). Inicialmente el compuesto bioactivo se moviliza desde la matriz del alimento hacia los jugos del tracto gastrointestinal refiriéndose al proceso de bioaccesibilidad. A continuación, los compuestos pueden ser transportados a través del epitelio intestinal hacia la vena porta y finalmente la fracción del compuesto que llega al hígado sin ser metabolizado llegará al sistema circulatorio. Por ende, la biodisponibilidad será el producto de la bioaccesibilidad, absorción y metabolismo (Versantvoort et al., 2004). La fracción biodisponible se convierte en un argumento importante en cuanto al desarrollo de formulaciones de alimentos ingeridos por vía oral (Soler-Cantero, 2009; Yuwen et al., 2014).

La *bioactividad* se define como el efecto específico que generará un componente posterior a su exposición a determinadas sustancias, abarcando la absorción a través del tejido y la respuesta fisiológica; sin embargo, se conoce que no toda la cantidad del compuesto bioactivo está disponible para ser absorbida en el tracto gastrointestinal (Rodríguez-Roque et al., 2013). En general los procesos de biodisponibilidad y con más frecuencia la bioaccesibilidad utilizan la digestión gastrointestinal *in vitro* para evaluar compuestos con actividad biológica en alimentos.

V.c. Bioaccesibilidad de nutrientes

La bioaccesibilidad de un nutriente depende de factores como la modificación del mismo frente a las condiciones y períodos al transportarse por el tracto gastrointestinal con la posibilidad de interactuar con alimentos diferentes; además debido a la diferencia en sus propiedades fisicoquímicas varios

compuestos con bioactividad son estables en medio gástrico y otros pueden sufrir de cambios irreversibles disminuyendo su biodisponibilidad. Según McClements et al. (2015), los factores que delimitan mayoritariamente la biodisponibilidad de compuestos funcionales son:

- La liberación del componente.- Limitada por su capacidad de ser liberado de la matriz alimentaria, es decir que el compuesto puede estar atrapado dentro de una matriz sólida de un alimento procesado o dentro de la estructura de una fruta o vegetal. Las condiciones de procesamiento de alimentos como cocción, molienda u homogenización favorecen este proceso.
- La solubilidad del alimento.- Limitada por su nivel de solubilidad con los fluidos intestinales. Los compuestos funcionales hidrofóbicos tienen baja solubilidad en el agua por ende es necesario incorporarlos en una matriz que promuevan su solubilidad intestinal.
- La interacción.- Determinados componentes pueden surgir a partir de la matriz de los alimentos ingeridos o pueden estar presentes de forma natural dentro del tracto gastrointestinal. Por ejemplo, la biodisponibilidad de la quercetina aumenta debido a la adición de grasa a un alimento (Dupas et al., 2006).

V.c.1. Bioaccesibilidad de la capacidad antioxidante

La acción efectiva de los antioxidantes puede depender de la liberación de la matriz del alimento que los contiene en la etapa de bioaccesibilidad (proceso digestivo) y pueden diferir cuantitativa y cualitativamente (Serrano et al., 2007). Los compuestos fenólicos son conocidos por su elevada actividad antioxidante, pudiendo ser oxidados con facilidad y descompuestos debido a las condiciones fisicoquímicas del tracto gastrointestinal; es por ello que, según explican Song y Ming (2010) químicamente se puede dar la degradación del compuesto fenólico antes de que sea absorbido en el sistema circulatorio afectando su biodisponibilidad.

Se ha determinado un papel indispensable del estómago en cuanto a digestión, absorción y el metabolismo de los nutrientes. Este compartimento establece una barrera fisiológica para una captación eficiente de los compuestos funcionales, entre ellos los polifenoles ya que su tiempo de residencia se considera una de las mayores causas de baja biodisponibilidad, al depender en gran medida de su estado fisiológico y el tiempo de variación de su paso a través de los sitios de absorción primarios (Yuwen et al., 2014).

Carbonell et al. (2015) y Rodríguez et al. (2013) explican que la absorción y el metabolismo de los polifenoles están determinados por sus características fisicoquímicas (tamaño molecular, estructura

básica, grado de polimerización, solubilidad y conjugación con otros fenoles); en el caso de los ácidos fenólicos de bajo peso molecular como el ácido gálico e isoflavonas su absorción es más simple a través del tracto gastrointestinal, de igual manera que las flavonas, catequinas y glucósidos de quercetina. Contrariamente polifenoles con estructuras complejas como proantocianidinas son degradados en monómeros o dímeros para ser absorbidos; por otro lado, las antocianinas son absorbidas como glicósidos y aparecen de esta forma en la sangre.

Factores como el pH del fluido gástrico y del intestino, fermentaciones intestinales, excreción biliar y el tiempo de recorrido en el tracto gastrointestinal pueden alterar la fracción bioaccesible y biodisponible de los polifenoles (Yang et al., 2011). Los polifenoles glicósidos poseen mayor resistencia a la hidrólisis ácida generada en el estómago, llegando inalterados al intestino delgado (Soler-Cantero, 2009). Conociendo la fragilidad de los compuestos fenólicos frente a las condiciones adversas del tracto gastrointestinal, es importante determinar una matriz alimentaria óptima que permita la conservación de la estructura original en su mayoría.

V.c.2. Efecto de la matriz en la bioaccesibilidad de compuestos fenólicos

La matriz en la que un compuesto se encuentre presente juega un rol importante en cuanto al proceso de bioaccesibilidad. La digestión y el proceso metabólico, incluyendo efectos no caracterizados de la estructura del alimento y el rol del procesamiento de la matriz pueden o no potenciar la bioaccesibilidad de los componentes bioactivos (Versantvoort et al., 2004; Wickham et al., 2009).

Compuestos polifenólicos como el ácido clorogénico, se acumulan generalmente en las vacuolas celulares. Entonces, durante el proceso de digestión de las proteínas celulares inducido en la etapa gástrica por la enzima pepsina, podrían liberarse y hacerse más bioaccesibles. Asimismo, el ácido clorogénico podría interactuar con el almidón y de esta manera liberarse posteriormente a su digestión. Razón por la cual se ha determinado que los alimentos que contienen polifenoles (como uvilla, mortiño, arándano, naranjilla, berenjena, brócoli, entre otros) ligados o asociados en determinada matriz alimentaria incrementan el interés en la salud debido a que existiría un aumento en la bioaccesibilidad y biodisponibilidad y una demora de su absorción o digestión disminuyendo la alteración de su composición (Miranda et al., 2013). Desde este punto de vista, Kurutas (2016) explica que la suplementación de antioxidantes en la dieta se ha convertido en una práctica popular en aumento relacionando su consumo para mantener mejores condiciones de salud.

Como se mencionó en secciones anteriores, la naranjilla tradicionalmente es utilizada como materia prima para la elaboración de pulpas, helados, jugos y postres. No obstante, son escasos otros alimentos desarrollados a partir de este fruto y sus subproductos, de igual manera no se encuentran estudios publicados acerca de la bioaccesibilidad de sus compuestos con actividad antioxidante en frutos enteros o en productos derivados.

El objetivo de este capítulo fue desarrollar un pan de molde enriquecido con naranjilla y determinar su calidad panadera, aceptabilidad sensorial y la bioaccesibilidad de compuestos antioxidantes mediante digestión *in vitro*.

V. RESULTADOS Y DISCUSION

V.1. Calidad panadera

V.1.1. Color de corteza y miga

La adición de la pulpa de naranjilla en la formulación del pan de molde produjo cambios significativos en los parámetros de color en la miga y corteza del producto panificado. En la **Figura V.1** se observa la apariencia externa e interna del pan control y del pan enriquecido con naranjilla. Hay diferencias notables entre los mismos y particularmente se percibe a simple vista la coloración amarillenta de la miga del pan de naranjilla, siendo una condición de colorante natural.



Figura V.1 Apariencia externa e interna de (a) pan sin adición de naranjilla -control- y (b) pan enriquecido con naranjilla

Normalmente durante el horneado se produce la reacción de Maillard a partir de los azúcares y aminoácidos presentes en la matriz (Alves y Perrone, 2015) generando el color pardo propio de la corteza del pan. Según se observa en la **Tabla V.2**, el valor de luminosidad (L^*) de la corteza del pan de naranjilla fue mayor al pan control, asimismo se produjo un incremento del valor de b^* (tonalidades marrones) mientras que el valor de a^* se vio ligeramente reducido. Como consecuencia de estos cambios el índice de pardeamiento (BI) del pan de naranjilla fue menor que el pan control como producto del aporte de carotenoides, azúcares y aminoácidos aportados por la pulpa de naranjilla. El BI variará según el producto usado como aditivo en la formulación del pan, por ejemplo, se ha observado un incremento en el BI con el uso de harina de alcachofa (Boubaker, et al., 2016). Por lo contrario, con la adición de harina de cáscara de melocotón (Ordoñez et al., 2016), al igual que en el presente estudio, los valores del BI se reducen.

Tabla V.2 Parámetros de color: L^* =luminosidad (escala: 0=negro, 100=blanco), a^* (escala: -a=verde, +a=rojo) y b^* (escala: -b=azul, +b=amarillo) e índice de browning (IB) de corteza y miga de pan control y pan de naranjilla

ZONA	Parámetro de color	Pan Control	Pan de naranjilla
CORTEZA	L^*	$70,64 \pm 2,13^b$	$73,48 \pm 2,13^a$
	a^*	$14,68 \pm 1,11^a$	$12,05 \pm 1,37^b$
	b^*	$41,27 \pm 41,27^b$	$43,35 \pm 1,31^a$
	BI	$98,07 \pm 5,79^a$	$95,72 \pm 6,51^a$
MIGA	L^*	$92,09 \pm 1,95^a$	$85,20 \pm 2,71^b$
	a^*	$-1,80 \pm 0,35^a$	$-2,52 \pm 0,44^b$
	b^*	$18,76 \pm 0,50^b$	$31,18 \pm 1,47^a$

Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$.

En contraste a lo ocurrido en la corteza del producto panificado, en la miga los valores de L^* y a^* del pan de naranjilla fueron ligeramente menores respecto al pan control y se registró un aumento del 40% del valor de b^* indicando la tendencia del producto a tonalidades amarillas esto, como se mencionó anteriormente, por el aporte de compuestos coloreados (carotenoides) de la naranjilla en la masa de panificación, obteniendo un producto con miga más oscura y amarillenta (**Figura V.1b**). Resultados similares se encontraron en panes elaborados con derivados harina de cáscara de melocotón y derivados de naranja, peras y manzanas (Ocen y Xu, 2013; Ordoñez, et al. 2016; Bchir et al., 2014).

V.1.2. Humedad y volumen específico

El contenido de humedad en productos panificados es uno de los factores de percepción de calidad con mayor importancia debido a que de este dependerá el tiempo de vida útil del producto (Bedolla et al., 2004), por encontrarse directamente relacionado con el contenido de agua disponible para el crecimiento de mohos (principal indicio de deterioro), además de su influencia en las características sensorial del pan (Cauvain y Young, 2016).

La adición de la pulpa de naranjilla en la masa de panificación no produjo una variación significativa en la humedad del producto. Se obtuvieron valores de 31.2 y 30.2 % para pan control y pan de naranjilla, respectivamente (**Tabla V.3**), los mismos que se encuentran dentro del rango óptimo para productos horneados (Cauvain y Young, 2016). Resultados similares se encontraron en pan enriquecido con harina de chia (Coelho y Salas-Mellado, 2015). En contraposición, la adición de pulpa de mortiño y harina de semillas de chía en formulaciones produce un pan con mayor humedad que los panes control (Guijarro et al., 2018; Coelho y Salas-Mellado, 2015). El porcentaje de materia prima con la que se fortifica el pan generalmente influyen en la humedad final, en este sentido, pan fortificado con harina de calabaza en un porcentaje de 5 y 10 % no afecta significativamente la humedad del producto, mientras que con un porcentaje de 15 y 20 % el producto presenta mayor humedad respecto a las muestras control (El-Demery, 2011).

Tabla V.3 Humedad y volumen específico de pan control y pan enriquecido con naranjilla

Parámetro	Pan Control	Pan de naranjilla
Humedad (%)	31,22 ± 0,54 ^a	30,26 ± 0,58 ^a
Volumen específico	4,62± 0,12 ^a	3,66± 0,15 ^b

Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$

Por otro lado, otro parámetro de interés en la calidad panadera de un producto fresco es el volumen específico. Aquí, el volumen específico del pan de naranjilla fue 20.7 % menor respecto al pan control (Tabla V.3). Esta diferencia se basa en la interacción de la fibra de la naranjilla con el gluten provocando la disminución del volumen de la masa y por ende menor capacidad de retención de gas (Correa, et al., 2011). Se ha establecido a la fibra dietaria como el principal agente de reducción del volumen específico durante el horneado (Bchir, et al., 2013) debido a que puede competir por el agua requerida para el

desarrollo de la masa que en consecuencia genera un menor volumen específico (Mancebo et al., 2017; Chang et al., 2015). Sin embargo, el volumen puede optimizarse mediante el uso de agentes antioxidantes en la formulación como ácido ascórbico, bromato de potasio o con el uso de harina con mayor contenido de proteína (Acosta, et al., 2014). También se ha reportado que los compuestos fenólicos influyen negativamente en la viscoelasticidad del gluten ya que estos compuestos pueden formar complejos con proteínas, vía enlaces puente de hidrógeno entre los grupos OH de los compuestos fenólicos y los C=O de los residuos peptídicos (Shahidi et al., 1995; Angelino et al., 2017).

V.1.3. Alveolado de miga

La formación de la miga, distribución de alvéolos y retención de aire son otros parámetros de la calidad panadera a tener en cuenta. Tras realizar el análisis de la imagen binarizada de miga del alveolado se encontraron diferencias significativas entre pan control y pan enriquecido con naranjilla (**Figura V.2 y Tabla V.4**). Los dos panes se diferencian principalmente en el número de alveolos. La adición de la pulpa de naranjilla en la formulación del pan produjo un aumento del 40% frente al número alveolar de pan control. Los mismos presentan mayor circularidad (30%), pero menor perímetro (18%), lo que conduce tanto a una menor área alveolar (25%) y retención de aire (7%) dando como resultado final el bajo volumen específico del pan de naranjilla. En resumen, este pan presenta mayor cantidad de alveolos, pero de menor tamaño y con menor uniformidad que el pan control. Resultados similares se obtuvieron en panes elaborados con adición de granos de lima e hidrolizados de poroto Caupi (Franco, et al., 2017), y pan con adición de pulpa de mortiño (Guijarro et al., 2018).

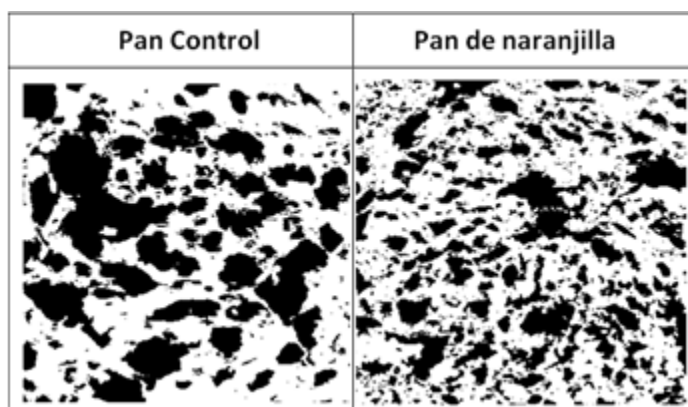


Figura V.2 Alveolado de la miga de pan sin adición de naranjilla -control- y pan enriquecido con puré de naranjilla

Las diferencias del alveolado de miga del pan de naranjilla con el pan control se deberían a la presencia de fibra aportada por la naranjilla; esta promovería la interferencia en el desarrollo normal de la red de

gluten estableciendo una relación inversamente proporcional entre fragilidad de la pared alveolar con los parámetros de perímetro, área alveolar y capacidad de retención de gas, tal como explican Koksel et al. (2017) y Bigne et al. (2016).

Tabla V.4 Análisis del alveolado de miga de pan sin adición de naranjilla -control- y pan enriquecido con puré de naranjilla

	Pan Control	Pan de naranjilla
No. alvéolos	555,11 ± 48,6 ^b	933,78 ± 160,53 ^a
Perímetro (cm)	0,32 ± 0,02 ^a	0,26 ± 0,04 ^b
Circularidad*	0,70 ± 0,09 ^b	1,00 ± 0,00 ^a
Área alveolar media (cm²)	0,04 ± 0,003 ^a	0,03 ± 0,006 ^b
Aire (%)	42,43 ± 1,65 ^a	39,53 ± 2,78 ^b

*Valor adimensional

Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$

V.1.4. Análisis de perfil de textura (TPA)

En la **Tabla V.5** se presentan los parámetros de textura del pan de naranjilla y pan control. La adición de pulpa de naranjilla produjo cambios significativos en la dureza, cohesividad, elasticidad, masticabilidad, resiliencia y consistencia, analizados mediante el perfil de textura (**Figura V.3**).

El pan de naranjilla se presenta como un producto con mayor dureza (4,98 N) en comparación al pan control (2,98 N), indicando una miga más compacta y con mayor resistencia al corte, similar a lo reportado por Salinas et al. (2015) en miga de pan con harina de algarroba. El aumento de la dureza estaría relacionado con la facilidad de la fibra de la naranjilla para absorber el agua produciendo un bajo desarrollo de la red de gluten; esta rigidez se encuentra relacionada, como se analizó anteriormente, con las características del alveolado de miga y consecuentemente con el menor volumen específico.

Tabla V.5 Análisis de perfil de textura (TPA) de pan sin adición de naranjilla -control- y pan enriquecido con puré de naranjilla

Parámetro	Pan control	Pan de naranjilla
Dureza (N)	2,98 ± 0,43 ^b	4,98 ± 0,72 ^a
Cohesividad*	0,44 ± 0,04 ^a	0,37 ± 0,02 ^b
Elasticidad*	0,40 ± 0,10 ^b	0,83 ± 0,07 ^a
Masticabilidad	0,53 ± 0,12 ^b	1,52 ± 0,12 ^a
Resiliencia*	0,21 ± 0,02 ^a	0,17 ± 0,20 ^b
Consistencia (N*s)	38,35 ± 9,69 ^b	63,89 ± 13,03 ^a

*Valores adimensionales descriptores. Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$.

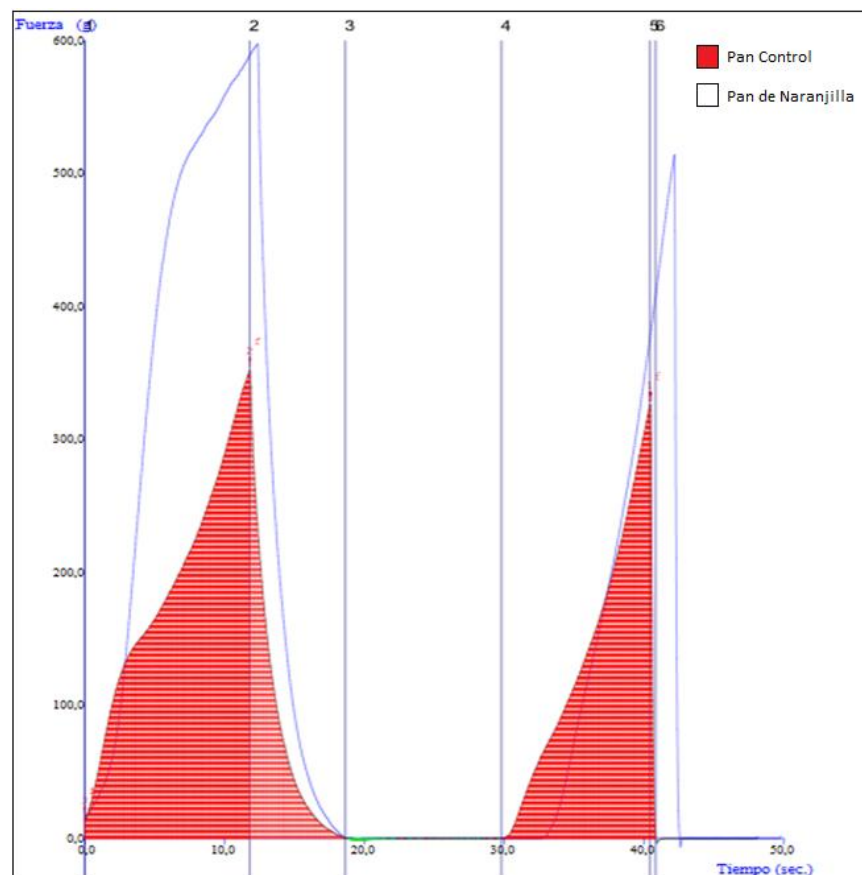


Figura V.3 Análisis de perfil de textura (TPA) de pan sin adición de naranjilla -control- y pan enriquecido con naranjilla

Por otro lado, en comparación con el pan control, la cohesividad y resiliencia del pan de naranjilla fue menor en un 18 y 19% (respectivamente); en tanto que la elasticidad, masticabilidad y consistencia fue mayor en 51, 65 y 39% (respectivamente). En conjunto estas diferencias producen una mayor resistencia para romper la estructura del pan en la masticación (Lee, 2017). El impacto de la rigidez natural de la fibra adicionada o la competencia por el agua (entre la fibra de naranjilla y harina de trigo) influyen en la suavidad de la miga del producto panificado (Chang et al., 2015) y estarían también relacionadas con una unificación de la estructura de la miga (Salinas et al., 2016). Resultados similares fueron reportados por Boubaker et al. (2016) en panes con adición de diferentes concentraciones de fibra de alcachofa y en pan fortificado con extracto de arroz negro rico en antocianinas (Siu et al., 2016). Los resultados indican que la elasticidad, cohesión y resiliencia se ven significativamente disminuidas por el debilitamiento de la estructura del gluten formando una masa menos elástica causado por los compuestos bioactivos que se adicionan en las formulaciones. Está comprobado que la adición o sustitución de materias primas como harinas obtenidas por secado de materiales vegetales en la formulación de la masa del pan produce cambios en las propiedades reológicas y térmicas tanto de la harina como de la masa y repercute en la calidad del producto final (Zhu et al., 2016).

V.2. Análisis sensorial

Con el fin de valorar el grado de satisfacción general (liking) producido por el pan de naranjilla se realizó una prueba hedónica con una escala gráfica lineal. Se utilizaron como criterios de análisis: apariencia, color, aroma, sabor, suavidad y la aceptabilidad global.

Los resultados se muestran en la **Figura V.4**. Los puntajes para todos los atributos evaluados en la aceptabilidad del producto panificado con naranjilla se encuentran sobre el 66%. El aroma fue el criterio de análisis con mayor puntuación (79%) seguido de la aceptación global con un 68%. Esto como resultado de los constituyentes volátiles (monoterpenos, alcoholes, aldehídos, lactonas, ácidos, hidrocarburos alifáticos y ésteres aromáticos) que se encuentran en la naranjilla y que se habrían mantenido o modificado en el producto panificado tras su horneado (Chaparro et al., 2017; Duarte et al., 2014).

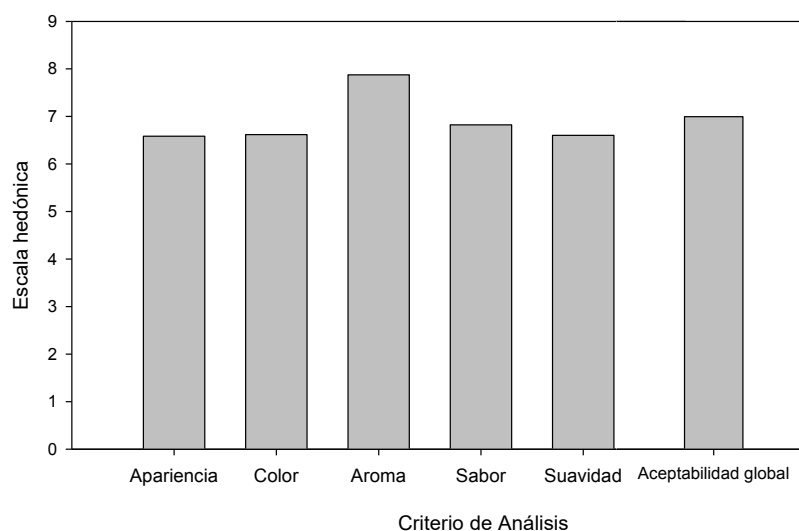


Figura V.4 Análisis sensorial (prueba de aceptabilidad) de pan enriquecido con puré de naranjilla

A pesar de que la adición de la pulpa de naranjilla produjo cambios significativos en las características de la miga generando las diferencias de textura respecto al pan control, los criterios de apariencia (66 %), color (66 %) y suavidad (66 %) no afectaron negativamente en la aceptabilidad sensorial del producto. Particularmente, el color es una cualidad visual de fácil detección, pero al informar al consumidor que está en presencia de un pan enriquecido con naranjilla ya lo predispone a hallar cambios en el mismo. Dichos cambios pueden o no ser de su agrado, y es allí donde radica la importancia de la evaluación sensorial con consumidores. Por ejemplo, pan elaborado con adición de extracto de té negro mostró diferencias en el color de la corteza y miga además de la suavidad, influyendo negativamente, en la aceptación de pan. También la blancura y suavidad del pan variaron drásticamente cuando se incrementó la concentración de té negro (Zhu et al., 2016).

Es muy importante también tener una gran cantidad de evaluadores y así obtener la mayor variabilidad posible de respuestas. Por ello, en el presente estudio fueron 100 los consumidores consultados en un rango de edad de 18 a 60 años. El hecho de que todas las puntuaciones hayan estado muy por encima de la puntuación media de 4.5, nos permite establecer que el pan enriquecido con puré de naranjilla realmente fue del agrado de los consumidores. El agregado de todo posible subproducto de vegetales debe ser siempre chequeado en cuanto a su aceptabilidad sensorial y decisión de compra por parte de consumidores, ya que un rechazo de los mismos implica la futura no aceptación del producto en el mercado. En tal sentido, el enriquecimiento de pan libre de gluten con altos niveles de hojas de moringa (10 %) afectó significativamente la aceptabilidad del producto, en tanto que el uso de 2,5 y 5 % no

afectó la textura; pero, sin embargo, ninguno de estos panes alcanzó las calificaciones del pan control (Bourekoua et al., 2018). Por otro lado, pan con 5% de harina de piel de palma presentó mayor calificación en textura, color, sabor, olor y aceptación global, mientras que con una concentración de 10 % la calificación fue significativamente menor a las muestras control (Ordoñez-Santos et al., 2016). El enriquecimiento de pan con brotes de brócoli tuvo ligera influencia negativa en la aceptabilidad del pan; el sabor, aroma y aceptabilidad del pan control y del pan con 1 y 2 % presentaron la puntuación más alta. En tanto que, niveles de sustitución de 4 y 5 % de brotes de brócoli fue totalmente inaceptable debido a la excesiva cantidad de compuestos de los brotes de brócoli que afectaron negativamente al aroma, sabor y textura del producto (Gawlik-Dziki et al., 2014). Por otro lado, Coelho y Salas-Mellado (2015) desarrollaron panes con flores y con semillas de chía. Todos los atributos evaluados presentaron puntuaciones mayores a 7 (en una escala hedónica de 1 a 9) y al consultar sobre el "intento de compra" se alcanzaron valores de 50-60 %, demostrando la viabilidad comercial de este producto.

V.3. Digestión *in vitro* y capacidad antioxidante

Muestras de pan control y pan de naranjilla fueron sometidas al proceso de digestión *in vitro* y en cada fase (masticación, gástrica y duodenal) se cuantificó la concentración de fenoles totales (FT), carotenoides totales (CT) y la capacidad antioxidante total expresada como equivalentes de Trolox (TEAC), según se muestra en la **Tabla V.6**. Los resultados se compararon con pan recién elaborado (producto fresco) en base al cual se determinó la fracción bioaccesible y el porcentaje de bioaccesibilidad.

Así como las frutas y vegetales, los cereales son fuente de antioxidantes, en los granos estos compuestos se concentran en las fracciones ácidas del salvado, principalmente como compuestos fenólicos esterificados con el ácido caféico y ácido ferúlico. Algunos estudios reportan que luego del horneado del pan se encuentran en mayor concentración en la corteza que en la miga debido a productos de la reacción de Maillard (Adom y Liu, 2002; Gélinas y McKinnon, 2006). Los compuestos fenólicos contribuyen a la capacidad antioxidante del pan, que es equivalente a frutas como nectarina y banana (Miller et al., 2000). Por otra parte, el pan elaborado con harina de trigo blanco contiene limitadas cantidades de carotenoides (Hidalgo y Brandolini, 2008) que son compuestos que también presentan actividad antioxidante, mientras que la naranjilla es un fruto con alto contenido de compuestos carotenoides, principalmente β -caroteno (Moreno, 2013). Como producto fresco, la adición

de la pulpa de naranjilla en la formulación del pan produjo un incremento del contenido de FT, CT y de la TEAC en una relación 1,7, 50 y 1,3 veces más, en relación al pan control, respectivamente.

Tabla V.6 Contenido de fenoles totales (FT), carotenoides totales (CT) y capacidad antioxidante total (TEAC) en el pan o producto fresco y en cada fracción (masticación, gástrica y duodenal) durante la digestión *in vitro* de pan control y pan enriquecido con naranjilla. Fracción bioaccesible (fracción dializada y soluble luego de etapa duodenal) y bioaccesibilidad porcentual en relación al pan o producto fresco.

Análisis	Pan	Producto fresco	Fase de digestión				Bioaccesibilidad (%)
			Masticación	Gástrica	Duodenal	Fracción bioaccesible	
FT*	C	22,7 ± 0,2 ^c	3,8 ± 0,2 ^e	11,4 ± 0,3 ^d	22,9 ± 0,2 ^c	8,9 ± 0,3 ^{de}	39,2
	N	40,6 ± 0,6 ^b	4,8 ± 0,1 ^{de}	11,2 ± 1,2 ^d	52,2 ± 4,9 ^a	21,9 ± 10,7 ^c	53,9
CT**	C	0,36 ± 0,1 ^{efg}	0,16 ± 0,1 ^g	0,58 ± 0,1 ^{ef}	0,60 ± 0,1 ^e	0,24 ± 0,1 ^{fg}	68,6
	N	18,9 ± 0,3 ^a	1,25 ± 0,4 ^d	10,05 ± 0,7 ^b	4,04 ± 0,3 ^c	0,30 ± 0,1 ^{efg}	1,5
TEAC***	C	18,9 ± 0,7 ^c	4,2 ± 0,1 ^f	N.D.	17,6 ± 0,8 ^d	5,5 ± 0,1 ^f	29,4
	N	26,1 ± 0,2 ^b	3,7 ± 0,1 ^g	2,3 ± 0,1 ^g	60,5 ± 0,9 ^a	6,1 ± 0,05 ^e	23,4

Letras distintas indican diferencia significativa entre las muestras en un test LSD de Fisher con nivel de significancia de $P < 0,05$.

*mg de catequina/kg pan; **mg β-caroteno /kg pan; ***(mmoles trolox/kg pan)

C = Pan control; N = Pan de naranjilla; N.D. = No Detectable.

La digestión *in vitro* nos permite de una manera relativamente sencilla simular lo que sucede en las etapas de masticación, gástrica y del intestino delgado. Tras realizar la digestión *in vitro* de los productos panificados, en general se encontró que indistintamente de la muestra de pan, los valores de FT, CT y TEAC en la etapa de masticación son menores frente a los obtenidos en las fases gástrica y duodenal. Estas diferencias se deben a la relación directa entre la ruptura de las estructuras alimentarias y la liberación de compuestos (en este caso, antioxidantes) tras la fuerza aplicada en la mordida para la trituración y reducción del tamaño de partículas. Según explican Low et al. (2015) y Grundy et al. (2015), el alto grado de integridad de la estructura y la menor liberación de componentes en la masticación podría indicar un elevado potencial de bioaccesibilidad de determinada matriz alimentaria. Sin embargo, en estudios de bioaccesibilidad mediante procesos *in vitro* existe la tendencia de no realizar o no analizar el resultado de esta fase de la digestión (Acton, 2012). Esto se debe a que la masticación es el primer paso en el que la fuerza mecánica y las enzimas comienzan a romper el tejido y los compartimentos celulares, así la matriz alimentaria comienza el proceso de ruptura en piezas de menor tamaño, con mayor área expuesta, pero que aún son secciones grandes desde las cuales se dificulta la liberación de los componentes nutricionales.

En la fase gástrica se continúa con el proceso de disgregación de la matriz alimentaria a pH ácidos y la liberación de los componentes de interés. El contenido de FT y CT se vio incrementado respecto del paso de masticación en ambos tipos de pan.

En la fase duodenal se determinó igual contenido de FT respecto del producto fresco en el pan control, mientras que se halló una mayor liberación de FT a partir del pan de naranjilla con valores de 52,2 mg catequina/kg pan que representa un 22% más que el producto fresco. Esto podría estar relacionado a una mejora de la extractabilidad de los compuestos fenólicos luego del proceso de digestión debido a la liberación de dichos compuestos que podían estar ligados a la pared celular (Angelino et al., 2017). Luego de efectuada la diálisis y cuantificación de los FT en la fracción soluble que atravesó la membrana, se halló una marcada reducción del contenido de FT en ambos panes. No obstante, según explica Guanathilake et al. (2017), no todos los FT logran ser dializados bajo condiciones experimentales simuladas. Algunos estudios han demostrado la influencia de los compuestos fenólicos en la disminución de digestibilidad del almidón (Sui et al., 2016; Świeca et al., 2014; He et al., 2017), es decir que disminuyen su fracción bioaccesible (en la fase de diálisis). A pesar de ello, el % de bioaccesibilidad respecto del producto fresco fue de 39,2 y 53,9 % para el pan control y de naranjilla, respectivamente. Esto denota que el puré de naranjilla agregado a la formulación del pan no sólo aporta mayor contenido de FT al pan, sino que favorece la bioaccesibilidad de los mismos. Resultados similares fueron reportados por Liang et al. (2012) quienes encontraron que luego del proceso de diálisis el contenido de FT y la capacidad antioxidante se reduce significativamente respecto a la digestión duodenal.

Es importante analizar la influencia de la matriz del alimento y el método de análisis utilizado. Por ejemplo, estudios de bioaccesibilidad en jugo de grosella, muestran que la disponibilidad de antioxidantes en frutos digeridos es mayor comparado a frutos crudos y jugos sin digestión; no obstante estos resultados, a diferencia de nuestro trabajo, no contemplan la fase de diálisis sino que los análisis son realizados una vez terminada la digestión duodenal (Chiang et al., 2013), lo que permite inferir que aquí la matriz del panificado reduciría el impacto de las condiciones gastrointestinales sobre los FT quedando disponibles para su absorción en el intestino delgado.

Al analizar el contenido de CT, se observó que el producto fresco (control) presentó un valor bajo (0,36 mg/kg), como se mencionara previamente para los panes de trigo blanco, y tras el proceso de digestión *in vitro* el valor fue de 0,60 mg β -caroteno/kg de pan en la fase duodenal y que terminó siendo de 0,24 mg/kg la fracción bioaccesible o que es dializada, dando como resultado un alto porcentaje de bioaccesibilidad (68%). Mientras que, con la adición de la pulpa de naranjilla en la formulación se determinó un valor de 18,9 mg β -caroteno /kg de pan en el producto fresco, que disminuye a 4,04

mg/kg en la fracción duodenal y termina siendo bioaccesible sólo un contenido de 0,30 mg/kg que representa un porcentaje de bioaccesibilidad de 1,5%. Los carotenoides se ven afectados en gran medida por las condiciones ácidas de la fase gástrica y alcalinas de la fase intestinal, además de su limitada solubilidad en fase acuosa (Carbonell et al. 2015), razón por la cual su contenido se vio disminuido en relación al producto fresco en un 47% en la fase gástrica y en 78,6% en fase duodenal. Se ha reportado que los carotenoides, de naturaleza hidrofóbica, aumentan su solubilidad al asociarse con compuestos lipídicos y en conjunto con moléculas de agua y sales biliares forman micelas que le permiten la circulación y digestión (Palafox-Carlos et al., 2011; Hof et al., 2000; Carbonell et al., 2014). La bioaccesibilidad de los carotenoides mejora en matrices que contienen una fase grasa como la leche que aporta a la formación de micelas en el intestino (Rodríguez-Roque et al., 2014; Van het hof, et al., 2000). Entonces, la bioaccesibilidad de CT dependerá de la matriz que los contenga, en este caso la estructura del producto panificado no habría permitido en su totalidad la protección de los carotenoides debido a que el contenido graso es reducido.

La capacidad antioxidante TEAC (hidrofílica) del pan (control) se atribuye generalmente a productos de la reacción de Maillard que se producen durante el horneado (Bhol et al., 2016, Patrignani et al., 2018), además de la presencia de moléculas de pronil-glicina, pronil-lisina (modificaciones de melanoidinas) y compuestos fenólicos incorporados por enlaces glicosídicos (Alves y Perrone, 2015), estos compuestos también influirían en los valores obtenidos en el análisis de FT del pan control. Los niveles de TEAC del pan de naranjilla fueron mayores a los del pan control, manteniendo esta diferencia durante todas las etapas de digestión. En este sentido, en la fracción duodenal, se observó que el pan control mostró valores comparables con los hallados en el producto fresco, mientras que el pan de naranjilla mostró valores 2,3 veces superior al producto fresco. Este hecho tuvo relación con lo hallado previamente para el contenido de FT, por lo que podría explicarse también gracias a una mayor extractabilidad de compuestos hidrofílicos. Luego del proceso de dializado se mantiene una fracción bioaccesible mayor en los panes de naranjilla, en valor absoluto, no obstante, el porcentaje de bioaccesibilidad es menor que el del pan control.

V. CONCLUSIONES

Los atributos de calidad del pan y su bioaccesibilidad fueron evidentemente influidos por la adición de puré de naranjilla en la formulación.

En la corteza del pan de naranjilla, los valores de luminosidad (L^*) y b^* fueron significativamente mayores a los del pan control, consecuentemente el índice de pardeamiento fue menor. Los valores de L^* y a^* de la miga fueron menores en el pan de naranjilla, únicamente el valor de b^* fue mayor en la miga debido a la tonalidad amarilla producto de los carotenoides que aporta la naranjilla en la masa del pan. La humedad del pan de naranjilla fue similar a la del pan control, sin encontrarse diferencia significativa entre las muestras. El volumen específico del pan de naranjilla fue significativamente menor al control, con la particularidad de presentar un mayor número de alveolos, más circulares, pero de menor tamaño. Esto evidencia que el agregado de puré de naranjilla interfirió en la normal formación de la red de gluten, debido probablemente a la incorporación de la fibra propia del fruto. En suma, estas diferencias habrían producido cambios significativos en los parámetros de textura del pan (dureza, cohesividad, elasticidad, masticabilidad, resiliencia y consistencia). El pan de naranjilla se presenta como un producto con mayor dureza, indicando una miga más compacta y con mayor resistencia al corte, como resultado probablemente de la fibra adicionada con el puré de la fruta o la competencia por el agua (entre la fibra de naranjilla y harina de trigo). Adicionalmente, los atributos evaluados en la aceptabilidad del producto panificado enriquecido con naranjilla se encuentran sobre el 66%. El aroma fue el criterio de análisis con mayor puntuación (79%) seguido de la aceptación global con un 68%. A pesar de que la adición de la pulpa de naranjilla produjo cambios significativos en las características de la miga, generando las diferencias de textura respecto al pan control, los criterios de apariencia, color y suavidad no afectaron negativamente a la aceptabilidad sensorial del producto.

La adición de la pulpa de naranjilla en la formulación del pan produjo un incremento del contenido de FT, CT y TEAC en una relación 1,7, 50 y 1,3 veces más, en relación al pan control, respectivamente. Tras realizar la digestión *in vitro* de los productos panificados, en general se encontró que los mayores valores de FT y TEAC se encontraron en la fase duodenal, superando al producto fresco, debido a una mayor liberación de los compuestos que podrían haber estado ligados a pared celular. Por el contrario, los CT se solubilizaron de una manera deficiente y terminaron siendo poco bioaccesibles.

El análisis global de resultados indica que el enriquecimiento del pan con naranjilla aporta una coloración amarillenta al producto que fue muy bien aceptado por los consumidores y que sería una alternativa de empleo de colorantes naturales. A su vez, si bien afecta ligeramente la calidad panadera del mismo, termina aportando compuestos benéficos para el consumidor.

Conclusiones finales



CONCLUSIONES FINALES

Como primera etapa del presente trabajo de investigación se realizó la caracterización de tres variedades de naranjilla (INIAP Quitoense 2009, Baeza y Agria) en grados de madurez 3 y 5; y estas últimas con un posterior almacenamiento a temperatura ambiente durante 14 días denominadas 5+almac (**Capítulo I**). Se determinó que durante la maduración se ven afectadas características como volumen, densidad, perímetro, longitud y rendimiento de pulpa. Se produjo una disminución de la acidez y se incrementaron el pH, sólidos solubles y *ratio* (sólidos solubles/acidez). En las tres variedades se produjo un incremento en la capacidad antioxidante (TEAC) y fenoles totales (FT). La variedad Agria presentó las mejores características antioxidantes seguida de Baeza e INIAP. Los frutos almacenados a temperatura ambiente durante 14 días se caracterizaron por la disminución del rendimiento de pulpa y firmeza; no obstante, presentaron los mayores valores de FT y TEAC respecto al grados de madurez 3 y 5. La variedad *Agria* se destacó por su alto contenido de FT y TEAC, pero también alta acidez titulable respecto a INIAP y Baeza; sin embargo, su producción y comercialización es limitada en Ecuador. La variedad *INIAP* se caracterizó por un mayor tamaño y rendimiento de pulpa que la hace propicia para su utilización en la industria. La variedad *Baeza* se caracterizó por su tamaño intermedio y buena firmeza (favorables para su manipulación y transporte) además de un elevado contenido de FT y TEAC, por lo que se recomienda su comercialización en fresco, por tanto, debido a estas propiedades fue seleccionada para los siguientes ensayos.

En la segunda etapa se evaluó el uso de la radiación UV-C como tratamiento poscosecha en naranjilla (**Capítulo II**), inicialmente se compararon tres dosis (4,5; 9,5 y 12,5 kJ/m²); se encontró que las dos primeras incrementaron la vida poscosecha del fruto 7 días respecto a los controles y a los tratados con 12,5 kJ/m². Esta última causó mayor deterioro y pérdida de peso que los frutos control. El tratamiento con 9,5 kJ/m² retuvo la calidad del fruto aún más que la dosis de 4,5 kJ/m² debido al retraso en el deterioro y menor pérdida de peso por lo que fue seleccionada como dosis efectiva. Durante el almacenamiento (21 días a 4°C), la dosis de 9,5 kJ/m² retuvo dos atributos importantes de calidad de la naranjilla: firmeza y color, retrasando síntomas de daño por frío como el oscurecimiento y el desarrollo de manchas superficiales. No produjo efectos perceptibles sobre características de calidad como pH, acidez titulable, sólidos solubles y *ratio*; y retardó el crecimiento de la microflora nativa (aerobios mésofilos, mohos y levaduras). A pesar de que la luz UV-C aumentó ligeramente la producción de etileno y la tasa de respiración, la calidad global del fruto se mantuvo y la pérdida de peso se vio retrasada por 7

días con respecto a los frutos sin tratamiento. Además, permitió mantener un mayor nivel de TEAC y mayor contenido de carotenoides (CT), sin interferir con el contenido de FT.

En la tercera etapa, fue evaluado el 1-MCP como tecnología poscosecha en naranjilla (**Capítulo III**) aplicado en una concentración de 0,5 $\mu\text{L/L}$ durante 8, 12 y 24 h y posterior almacenamiento a 4 °C durante 28 días. La exposición de los frutos por 12 y 24 h produjo mayor pérdida de peso y mayor deterioro que los frutos expuestos 8 h y que los frutos sin tratamiento, inclusive. Por ello se seleccionaron como las condiciones efectivas de tratamiento con 1-MCP el tiempo de exposición de 8 h y 21 días de almacenamiento. Durante este tiempo, el 1-MCP disminuyó la tasa respiratoria y retuvo la firmeza de la naranjilla. No afectó significativamente la producción de etileno y el pH, y no se encontraron efectos claros sobre la acidez, el contenido de sólidos solubles y en consecuencia el *ratio*. También permitió mantener mejores características de color y un menor desarrollo de síntomas de daño por frío tales como manchas pardas en la superficie del fruto. Sin ser considerada una tecnología para el control de microorganismos, se comprobó que permite mantener menores niveles de la población de aerobios mesófilos, mohos y levaduras. El tratamiento no afectó significativamente al contenido de FT respecto a los frutos control, produjo un incremento de CT y TEAC fue mayor que en los frutos controles. En consecuencia, el avance del deterioro del fruto se vio ralentizado; los frutos control perdieron su calidad organoléptica y comercial en el día 14, mientras que los frutos tratados mantuvieron mejores características de calidad durante los 21 días de almacenamiento.

El análisis del perfil fenólico por HPLC y compuestos lipofílicos por CG-EM en naranjilla tratada con radiación UV-C y 1-MCP reveló la presencia de compuestos bioactivos de interés como aminas (derivados de espermidinas), compuestos fenólicos, ácidos grasos poliinsaturados (ácido petroselaídico, linoleico y linolénico). Estos compuestos convierten a la naranjilla en un fruto con potencial funcional y constituyen un antecedente para futuras investigaciones en diferentes áreas, tanto para el uso del fruto como fuente de extracción de compuestos bioactivos como materia prima para el desarrollo de alimentos funcionales.

Considerando el efecto hormético y germicida de la radiación UV-C (9,5 kJ/m^2) y el 1-MCP (0,5 $\mu\text{L/L}$ - 8h), en el **Capítulo IV**, se evaluaron las respuestas inducidas en frutos de naranjilla por aplicación de estas tecnologías como pretratamientos y su influencia sobre el control de *Fusarium polyphialidicum*. Este hongo filamentoso fue aislado de la microflora nativa de la naranjilla. La radiación UV-C presentó mayor efectividad que el 1-MCP en cuanto al control del desarrollo de *F. polyphialidicum*. Los frutos pretratados presentaron menor severidad de daño del tejido evidenciada por un menor halo de infección externo e interno y menor pérdida de peso y firmeza. Bajo las condiciones de ensayo, la

radiación UV-C y el 1-MCP en naranjilla actuarían como agentes horméticos alterando la susceptibilidad al ataque fúngico producido por la infección de *F. polyphialidicum* induciendo un mecanismo de resistencia que puede dividirse en dos fases: una primera a tiempo cortos (4 h después del pretratamiento e inoculación) al promover el incremento de la actividad de PAL que está directamente relacionado con el aumento del contenido de fenoles totales, además del aumento de la actividad de las enzimas PPO y POX. Una segunda fase se produce a tiempos prolongados de almacenamiento en el que se mantiene elevada actividad de PAL y contenido de FT, en contraste con la disminución de PPO y POX. Habiendo determinado las características antioxidantes de la naranjilla, esta fue utilizada en forma de puré para el desarrollo de un pan de molde enriquecido con este fruto (**Capítulo V**) y se determinó la bioaccesibilidad de los antioxidantes mediante digestión *in vitro*. Los atributos de calidad del pan y su bioaccesibilidad fueron evidentemente influidos por la adición del puré de naranjilla en la formulación. La fibra aportada por la naranjilla promovería la interferencia en el desarrollo normal de la red de gluten provocando la disminución del volumen específico del pan, lo que provocó un aumento del número de alveolos, mayor circularidad y menores perímetro, área alveolar y retención de aire. En suma, estas diferencias habrían producido cambios significativos en los parámetros de textura del pan (dureza, cohesividad, elasticidad, masticabilidad, resiliencia y consistencia). Con respecto a la bioaccesibilidad, la adición de la pulpa de naranjilla en la formulación del pan produjo un incremento del contenido de compuestos fenólicos, carotenoides y de la capacidad antioxidante en relación al pan control. Estas condiciones permitieron que luego de la digestión *in vitro* se mantengan mayores valores de antioxidantes en el pan enriquecido con naranjilla sugiriendo que la matriz del pan formada habría permitido que los compuestos con actividad antioxidante no se vean afectados por las condiciones de acidez y basicidad del estómago e intestino, respectivamente. Entonces, el pan fortificado con naranjilla, además de una buena aceptabilidad, presenta potenciales características funcionales benéficas para el consumidor.

Finalmente, los resultados encontrados en la presente Tesis podrían resultar de interés para completar la información (química y de calidad) disponible de las diversas variedades de naranjilla y la transferencia de tecnologías poscosecha a nivel de campo previo al empaque y transporte con el fin de asegurar el efecto hormético y germicida de la radiación UV-C y 1-MCP, extender la vida útil de la naranjilla, y obtener un producto con valor nutricional agregado para el consumidor como una potencial fuente de compuestos bioactivos y con nuevas alternativas para su procesamiento.

Bibliografía



BIBLIOGRAFÍA

- Abeles F.; Morgan P. y Saltveit M. (1992) Ethylene in plant biology. Academic Press: New York. 414 p.
- Acked, J. (2002) Maintaining the post-harvest quality of fruits and vegetables. In Fruit and Vegetable Processing, ed. W. Jongem, 121–149. Abington: Woodhead Publishing Limited
- Acosta, O.; Pérez, A. M. y Vaillant, F. (2009) Chemical characterization, antioxidant properties, and volatile constituents of naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.) cultivated in Costa Rica. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 59(1), 88-94
- Acton, A. (2012) Cellular Structures—Advances in Research and Application. Atlanta, Georgia: Scholarly Editions, 653 pp
- Adams-Phillips, L., Barry, C. y Giovannoni, J. (2004) Signal transduction systems regulating fruit ripening. Trends in Plant Science, 9, 331–338.
- Adom, K.K. y Liu, R.H. (2002) Antioxidant activity of grains. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50, 6182–6187
- Ahmad, N., Zuo, Y., Lu, X., Anwar, F. y Hameed, S. (2016) Characterization of free and conjugated phenolic compounds in fruits of selected wild plants. Food Chemistry, 190, 80-89
- Alexander, L. y Grierson, D. (2002) Ethylene biosynthesis and action in tomato: a model for climateric fruit ripening. Journal of Experimental Botany, 53 (377), 2039-2055
- Algaba, I.M. (2005). Protección ultravioleta proporcionada por los textiles: estudio de la influencia de las variables más significativas y aplicación de productos específicos para su mejora. [Tesis doctoral] Departament d'Enginyeria Tèxtil i Paperera. Universitat Politècnica de Catalunya. España
- Al-Hatmi, A. M., Hagen, F., Menken, S. B., Meis, J. F. y de Hoog, G. S. (2016) Global molecular epidemiology and genetic diversity of *Fusarium*, a significant emerging group of human opportunists from 1958 to 2015. Emerging Microbes & Infections, 5(12), e124–e124
- Almanza-Merchán, P.J., Velandia D., J. D. y Tovar L., Y. P. (2016) Propiedades fisicoquímicas durante el crecimiento y desarrollo en dos variedades de frutos de lulo (*Solanum quitoense* Lam.). Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas, 10(2), 222-231
- Allothman, M.; Bhat, R. y Karim, A.A. (2009) UV-C radiation-induced changes of antioxidant capacity of fresh-cut tropical fruits. Innovative Food Science and Emerging Technologies 10, 512–516
- Altunkaya, A.; Hedegaard, R.V.; Brimer, L.; Gökmen, V. y Skibsted, L.H. (2013) Antioxidant capacity versus chemical safety of wheat bread enriched with pomegranate peel powder. Food and Function, 4 (5), 722-727
- Álvarez-Herrera, J.G.; Galvis, J.A. y Balaguera-López, H.E. (2009) Determinación de cambios físicos y químicos durante la maduración de frutos de champa (*Campomanesia lineatifolia* R. & P.) Agronomía Colombiana, 27(2), 253-259
- Alves, G. y Perrone, D. (2015) Breads enriched with guava flour as a tool for studying the incorporation of phenolic compounds in bread melanoidins. Food Chemistry, 185, 65-74
- Alzamora, S.M. (2007) Consultado el 13 de octubre de 2007. Tecnología de conservación. La radiación ultravioleta. Una alternativa “no térmica” para la pasterización de jugos. [en línea]. http://ialimentaria.com/publicaciones/articulos/IA68_S7.pdf
- American Dietetic Association (1999) Position of the American Dietetic Association: functional foods. Journal of the American Dietetic Association, 99, 1278–1285
- Andrade Cui, M.J.; Moreno Guerrero, C.; Rivera Campaña, K.; Rodoni, L.M.; Concellón, A. (2013) La radiación UV-C mejora la calidad microbiológica de la naranjilla (*Solanum quitoense*) mínimamente procesada. XIV Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos – CYTAL 2013, 5º Simposio Internacional de Nuevas Tecnologías, III Simposio Latinoamericano sobre Higiene y Calidad de Alimentos. 23-25 octubre 2013, Rosario, Argentina. Publicación en CD

- Andrade-Cuvi, M.J.; Moreno Guerrero, C.; Zaro, M.; Vicente, A.R.; Concellón, A. (2017) Improvement of the antioxidant compounds and postharvest life of three exotic Andean fruits by UV-C treatment. *Journal of Food Quality*. Article ID 4278795, 10 pages.
- Andrade-Cuvi, M.J.; Moreno-Guerrero, C.; Concellón, A. y Chicaiza-Velez, B. (2013a) Efecto hormético de la radiación UV-C sobre el desarrollo de *Rhizopus* y *Phytophthora* en naranjilla (*Solanum quitoense*). *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 14 (1), 64-70
- Andrade-Cuvi, M.J.; Moreno-Guerrero, C.; Henríquez-Bucheli, A.; Gómez-Gordillo, A. y Concellón, A. (2010) Influencia de la radiación UV-C como tratamiento postcosecha sobre carambola (*Averrhoa carambola* L.) mínimamente procesada. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 11 (1) 18-27
- Andrade-Cuvi, M.J.; Vicente, A.R.; Concellón, A. y Chavez, A.R. (2011) Changes in red pepper antioxidants as affected by UV-C treatments and storage at chilling temperature. *LWT Food Science and Technology*, 44(7), 1666-1671
- Angelino D.; Cossu M.; Marti A.; Zanoletti M.; Chiavaroli L.; Brighenti F.; Del Río D., Martini D. (2017) Bioaccessibility and bioavailability of phenolic compounds 1 in bread: a review. *Food & Function*, 8(7), 2368-2393
- Aparna, V.; Dileep, K. V.; Mandal, P. K.; Karthe, P.; Sadasivan, C. y Haridas, M. (2012) Anti-Inflammatory Property of n-Hexadecanoic Acid: Structural Evidence and Kinetic Assessment. *Chemical Biology & Drug Design*, 80(3), 434–439
- Apel, K. y Hirt, H. (2004) Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 55, 373-399
- Aquino-Bolaños, E.N. y Mercado-Silva, E. (2004) Effects of polyphenol oxidase and peroxidase activity, phenolics and lignin content on the browning of cut jicama. *Postharvest Biology and Technology*, 33 (3) 275-283
- Arango H., Vaillant Fabrice, Vélez V. y Millan P. (1999) Evaluation of post-harvest performance of naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.) fruits packed under modified atmosphere (MA). *Fruits*, 54 (4): 261-270
- Arcas, M.C.; Botia, J.M.; Ortuno, A.M. y Del Rio, J.A. (2000) UV irradiation alters the levels of flavonoids involved in the defence mechanism of *Citrus aurantium* fruits against *Penicillium digitatum*. *Eur. J. Plant Pathol.*, 106, 617–622
- Arévalo, R.A.; Bertoncini, E.I.; Guirado, N. y Chaila, S. (2006) Los términos cultivar o variedad de caña de azúcar (*Saccharum* spp.). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 12 (1), 5-9
- Argenta, L.C.; Fan, X. y Mattheis, J.P. (2003) Influence of 1-methylcyclopropene on ripening, storage and production by d'Anjou v. Pear Fruit. *J. Agric. Food Chem.*, 51 (3) 3858-3864
- Arizala, M.; Monsalvo, Á.; García, C. B.; González, C. S. y Burbano, T. C. L. (2011) Evaluación de solanáceas silvestres como patrones de lulo (*Solanum quitoense* Lam) y su reacción a *Fusarium* sp. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 28(1), 147-160
- Arrieta-Guevara, M.A.; Higuera-Mancipe, B.L. y Martínez-Peralta, S.T. (2010) Inducción de fenilalanina amonio liasa y variación en el contenido de compuestos fenólicos en frutos de lulo (*Solanum quitoense* Lam) infectados con *Colletotrichum acutatum*. *Acta biol. Colomb.*, 15 (1), 129-144
- Arteaga-Dalgo, M.; Andrade-Cuvi, M.J. y Moreno-Guerrero, C. (2014) Relación del desarrollo del color con el contenido de antocianinas y clorofila en diferentes grados de madurez de mortiño (*Vaccinium floribundum*). *Enfoque UTE*, 5 (2), 14-28
- Artés, F.; Conesa, A.; López-Rubira, V.; ArtésHernández, F. (2006) UV–C treatments for improving microbial quality in whole and minimally processed bell peppers. The Use of UV as a Postharvest Treatment: Status and Prospects. *Proceedings of the International Conference on Quality Management of Fresh Cut Produce*. In Ben-Yehoshua, S., D'Hallewin, G., Erkan, M., Rodov, V., Lagunas, M. (Eds.), ISHSS, Leuven, Belgium pp. 12-17

- Artés, F.; Gómez, P.; Aguayo, E.; Escalona, V. y Artés-Hernández, F. (2009) Sustainable sanitation techniques for keeping quality and safety of fresh-cut plant commodities. *Postharvest Biology and Technology*, 51, 287–296
- Artés-Hernández, F.; Robles, P.A.; Gómez, P.A.; Tomás-Callejas, A. y Artés, F. (2010) Low UV-C illumination for keeping overall quality of fresh-cut watermelon. *Postharvest Biology and Technology*, 55 (2), 114-120
- Atkinson, N.J. y Urwin, P.E. (2012) The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. *J. Exp. Bot.*, 63 (10), 3523-3543
- Aubert, C. y Chanforan, C. (2007) Postharvest changes in physicochemical properties and volatile constituents of apricot (*Prunus armeniaca* L.) characterization of 28 cultivars. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 3074–3082
- Bajko, E.; Kalinowska, M.; Borowski, P.; Siergiejczyk, L. y Lewandowski, W. (2015) 5-O-Caffeoylquinic acid: a spectroscopic study and biological screening for antimicrobial activity. *LWT Food Science and Technology*, 65, 471-479
- Baker, A.G., (1952) The vapor-heat process. U.S. Dept. Agric. Yearbook, U.S. Govt. Printing Office, Wash., DC.
- Balbontín, C.; Gaete-Eastman, C.; Vergara, M.; Herrera, R. y Moya-León, M. A. (2007) Treatment with 1-MCP and the role of ethylene in aroma development of mountain papaya fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 43(1), 67–77
- Ballester, A.R.; Lafuente, M.T y González-Candelas, L. (2006) Spatial study of antioxidant enzymes, peroxidase and phenylalanine ammonia-lyase in the citrus fruit-*Penicillium digitatum* interaction. *Posth. Biol. and Tech.*, 39, 115-124
- Ballester, A.R.; Lafuente, M.T. y González-Candelas, L. (2013a) Citrus phenylpropanoids and defence against pathogens. Part II: gene expression and metabolite accumulation in the response of fruits to *Penicillium digitatum* infection. *Food Chemistry*, 136, 285-291
- Ballester, A.R.; Lafuente, M.T.; de Vos, Ric C.H.; Bovy, A.G. y González-Candelas, L. (2013) Citrus phenylpropanoids and defence against pathogens. Part I: metabolic profiling in elicited fruits. *Food Chemistry* 136, 178-185
- Barka, E.A. (2001) Protective enzymes against reactive oxygen species during ripening of tomato (*Lycopersicon esculentum*) fruits in response to low amounts of UV-C. *Australian Journal of Plant Physiology*, 28(8) 785 - 791
- Barth, M.; Hankinson, T.R.; Zhuang, H. y Breidt, F. (2010) Microbiological spoilage of fruits and vegetables. Chapter 4. From Compendium of the Microbiological spoilage of foods and beverages. Ed. Springer.
- Barth, M.M. y Zhuang, Z.A. (1996) Packaging desing affects antioxidants vitamin retention and quality of broccoli postharvest storage. *Postharvest Biol. Technol.*, 9, 141-150
- Bartz, J.A. y Brecht, J.K. (2002) Postharvest physiology and pathology of vegetables, Series: Food Science and Technology second ed. CRC Press.
- BCE (2016) Banco Central del Ecuador. Base de datos Comercio Exterior. www.bce.fin.ec
- Bchir, B.; Rabetafika, H.N.; Paquot, M. y Blecker, C. (2014) Effect of pear, apple and date fibres from cooked fruit by-products on dough performance and bread quality. *Food and Bioprocess Technology*, 7(4), 1114-1127.
- Bedolla Bernal, S.; Dueñas Gallegos, C.; Esquivel Ibarra, I.; Flavela Torres, T.; Guerrero Huerta, R.; Mendoza Madrid, E.; Navarrete-López, A.; Olguín-Martínez, L.; Ortiz-Gama, J.; Pacheco Puc, O.; Quiroz-Bravo, M.; Ramírez-Shoettlin, A. y Trujillo Castillo, M. (2004) Introducción a la tecnología de alimentos (Segunda ed.). México

- Beno-Moualem, D.; Gusev, L.; Dvir, O.; Pesis, E.; Meir, S. y Lichter, A. (2004) The effects of ethylene, methyl jasmonate and 1-MCP on abscission of cherry tomatoes from the bunch and expression of endo-1, 4- β -glucanases. *Plant Science*, 167(3), 499-507
- Ben-Yehoshua, S. (2003) Effects of postharvest heat and UV applications on decay, chilling injury and resistance against pathogens in citrus and other fruits and vegetables. *Acta Hort.*, 599, 159-173
- Bhagwat, B. y Duncan, E.J. (1998) Mutation breeding of highgate (*Musa acuminata*, AAA) for tolerance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* using gamma irradiation. *Euphytica*. Vol. 101 (2), 143-150
- Bhol, S., Lanka, D. y Don Bosco, S. (2016) Quality characteristics and antioxidant properties of breads incorporated with pomegranate whole fruit bagasse. *Journal of Food Science Technology*, 53(3), 1717-1721
- Biggs, M.S., Woodson, W.R. y Handa, A.K., (1988) Biochemical basis of high-temperature inhibition of ethylene biosynthesis in ripening tomato fruits. *Physiol. Plant.* 72, 572-578
- Bigliardi, B. y Galati, F. (2013) Innovation trends in the food industry: the case of functional foods. *Trends in Food Science & Technology*, 31(2), 118-129
- Bigne, F., Puppo, M. y Ferrero, C. (2016) Fibre enrichment of wheat flour with mesquite (*Prosopis spp.*): Effect on breadmaking performance and staling. *LWT - Food Science and Technology*, 65(2016), 1008-1016.
- Blankenship, S. M. y Dole, J. M. (2003) 1-Methylcyclopropene: a review. *Postharvest Biology and Technology*, 28(1), 1-25.
- Blankenship, S. y Sisler, E. (1993) Response of apples to diazocyclopentadiene inhibition of ethylene binding. *Postharvest Biology and Technology*, 3, 95-101
- Blokhina, O.; Virolainen, E. y Fagerstedt, K. (2003) Antioxidant, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of botany*, 91, 179-194
- Blumenkrantz, N. y Asboe-Hansen, G. (1973) New method for quantitative determination of uronic acids. *Analytical Biochemistry*. 54, 484-48
- Boeckx, T.; Winters, A. L.; Webb, K. J. y Kingston-Smith, A. H. (2015) Polyphenol oxidase in leaves: is there any significance to the chloroplastic localization?. *Journal of experimental botany*, 66(12), 3571-3579
- Bonilla, D. M. (2010) Evaluación de dos Índices de Cosecha y Tipos de Empaque del Fruto de Naranja (*Solanum quitoense* Lam.) Híbrido INIAP Palora, bajo dos Condiciones De Almacenamiento, en el Cantón Cevallos de la Provincia de Tungurahua. [Tesis Ingeniería de Alimentos] Universidad Técnica de Ambato. Ecuador
- Bosquez Molina, E.; Domínguez Soberanes, J.; Perez Flores, L.; Bautista Baños, S.; Díaz de León Sánchez, F. y Rivera-Cabrera, F. (2008) Efecto del acondicionamiento con calor en la susceptibilidad al daño por frío de lima persa (*Citrus latifolia* Tanaka). *Phyton (Buenos Aires)*, 77, 161-174
- Boubaker, M.; Damergi, C.; Ben. C.; Blecker, C. y Bouzouita, N. (2016) Effect of artichoke (*Cynara scolymus* L.) by-product on the quality and total phenol content of bread. *Mediterranean Journal of Chemistry*, 5(5), 548-553.
- Bourekoua, H.; Różyło, R.; Gawlik, U.; Benatallah, L.; Nasreddine, M. y Dziki, D. (2018) Evaluation of physical, sensorial, and antioxidant properties of gluten-free bread enriched with Moringa Oleifera leaf powder. *Europe Food Research Technology*, 244(2018), 189-195
- Bradford, K. (2008) Shang Fayang: Pioneer in plant ethylene biochemistry. *Plant Science*, 175(1-2), 2-7
- Brand, W.; Cuvelier, M. y Berset, C. (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30
- Brandelli, A. y Lopes, C.H.G.L. (2005) Polyphenol oxidase activity, browning potential and phenolic content of peaches during postharvest ripening. *Journal of Food Biochemistry*, 29 (6) 624-637

- Bravo, S.; García-Alonso, J.; Martín-Pozuelo, G.; Gómez, V.; Santaella, M.; Navarro González, I. y Periago, M.J. (2012) The influence of post-harvest UV-C hormesis on lycopene, carotene, and phenolic content and antioxidant activity of breaker tomatoes. *Food Res. Int.*, 49, 296–302
- Brito, B.; Espín, S.; Vásquez, W.; Viteri, P. López, P. y Jara, J. (2011) Manejo poscosecha, características nutricionales de la naranjilla para el desarrollo de pulpas y deshidratados. INIAP. Plegable No. 386. Quito, Ecuador
- Bruhn, C.M. (1995) Consumer Attitudes and Market Response to Irradiated Food. *Journal of Food Protection*, 58 (2), 175-181
- Butot, S., Cantergiani, F., Moser, M., Jean, J., Lima, A., Michot, L., Putallaz, L.; Stroheker, T. y Zuber, S. (2018) UV-C inactivation of foodborne bacterial and viral pathogens and surrogates on fresh and frozen berries. *International Journal of Food Microbiology*, 275, 8–16
- Caicedo, O.; Higuera, B.L. y Martínez, S. (2009) Inducción de actividad peroxidasa y de fenoles totales como respuesta del fruto de lulo (*Solanum quitoense* L.) al patógeno causal de la antracnosis. *Revista Colombiana de Química*, 38(1), 25-42
- Calvo, G. (2003) Effect of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on pear maturity and quality. *Acta Horticulturae*, 628, 203-211
- Camm, E.L. y Towers, H.N. (1973) Phenylalanine ammonia lyase. Review Article. *Phytochemistry*, 12, 961-973
- Carbonell-Capella, J. M.; Buniowska, M.; Barba, F. J.; Esteve, M. J. y Frígola, A. (2014) Analytical methods for determining bioavailability and bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13, 151-171
- Carbonell-Capella, J. M.; Buniowska, M.; Esteve, M. J. y Frígola, A. (2015) Effect of Stevia rebaudiana addition on bioaccessibility of bioactive compounds and antioxidant activity of beverages based on exotic fruits mixed with oat following simulated human digestion. *Food Chemistry*, 184, 122-130
- Cárdenas-Coronel, W.G.; Velez-de la Rocha, R.; Siller-Cepeda, J.H.; Osuna-Enciso, T.; Muy-Rengel, M.D. y Sañudo-Barajas, J.A. (2012) Cambios en la composición de almidón, pectinas y hemicelulosas durante la maduración de mango (*Mangifera indica* cv Kent). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 13 (1) 9-19
- Carrillo, L. (2003) Claves para la identificación de los hongos de los alimentos y forrajes. Universidad Nacional de Salta, Argentina
- Carvalho, C.P. y Betancur, J.A. (2015) Caracterización de la calidad del fruto de mora de "Castilla" (*Rubus glaucus* Benth) en diferentes grados de madurez. *Agronomía Colombiana*, 33(1), 74-83
- Casasierra-Posada, F. y Aguilar-Avedaño, O. (2008) Calidad en frutos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cosechados en diferentes grados de madurez. *Agronomía Colombiana*, 26 (2), 300-307
- Casasierra-Posada, F.; García, E.J. y Ludders, P. (2004) Determinación del punto óptimo de cosecha en el lulo (*Solanum quitoense* Lam. var. quitoense y septentrionale). *Agronomía Colombiana*, 22 (1), 32-39
- Castellanos, G.; Jara, C. y Mosquera, G. (2013) Producción de micelio en medio líquido para extracción de ADN. CIAT
- Cauvain, S.P. y Young (2016) Bread and Other Bakery Products. En Subramaniam, P. y Wareing, P. (Ed. 2), *The Stability and Shelf Life of Food* (pp. 431-459) UK: Persis Subramaniam y Peter Wareing.
- Chang, R., Li, C. y Shiau, S. (2015) Physico-chemical and Sensory Properties of Bread Enriched with Lemon Pomace Fiber. *Food Technology and Economy, Engineering and Physical Properties*, 2, 180-185
- Chaparro, L.; Castillo, S.; Vaillant, F.; Servent, A. y Dornier, M. (2017) Efecto de la microfiltración y diafiltración en el contenido de carotenoides y compuestos aromáticos del jugo de sandía (*Citrullus lanatus* L.). *Bioagro* 29(3), 185-196

- Char, C. D.; Mitilini, E.; Guerrero, S. N. y Alzamora, S. M. (2010) Use of high-intensity ultrasound and UV-C light to inactivate some microorganisms in fruit juices. *Food and Bioprocess Technology*, 3(6), 797-803
- Charles, M.T.; Tano, K.; Asselin, A.; Arul, J. (2009) Physiological basis of UV-C induced resistance to *Botrytis cinerea* in tomato fruit. V. Constitutive defence enzymes and inducible pathogenesis related proteins. *Postharvest Biology and Technology*, 51(3), 414-424
- Chaudhari, R. (2009) Satiety ingredients: losing fats not nutrients. *Asia Pacific Food Industry*, 42, 42-44
- Chen, A. Y., & Chen, Y. C. (2013) A review of the dietary flavonoid, kaempferol on human health and cancer chemoprevention. *Food Chemistry*, 138(4), 2099-2107
- Chen, J.; Mitchell, D.L. y Brithh, A.B. (1994) A Light-Dependent Pathway for the Elimination of UV-Induced Pyrimidine (6-4) Pyrimidinone Photoproducts in Arabidopsis. *The Plant Cell*, Vol. 6, 1311-1317
- Chen, Y.; Cothren, J.T.; Chen, D.-H.; Ibrahim, A.M.H. y Lombardini, L. (2015) Ethylene-inhibiting compound 1-MCP delays leaf senescence in cotton plants under abiotic stress conditions. *Journal of Integrative Agriculture*, 14 (7), 1321-1331
- Chérif, M., Arfaoui, A. y Rhaïem, A. (2007) Phenolic compounds and their role in bio-control and resistance of chickpea to fungal pathogenic attacks. *Tunisian Journal of Plant Protection*, 2(1), 7-21
- Chiang, C.; Kadouh, H. y Zhou, K. (2013) Phenolic compounds and antioxidant properties of gooseberry as affected by *in vitro* digestion. *LWT – Food Science Technology*, 51, 417-422
- Chisari, M.; Barbagallo, N. R. y Spagna, G. (2007) Characterization of polyphenol oxidase and peroxidase and influence on browning of cold stored strawberry fruit. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 346-347
- Choi, S. y Huber, D. (2009) Differential sorption of 1-methylcyclopropene to fruit and vegetables tissues storage and cell wall polysaccharides, oils, and lignins. *Postharvest Biology and Technology*, 52, 62-70
- Cisneros-Zevallos, L. (2003) The use of controlled postharvest abiotic stresses as a tool for enhancing the nutraceutical content and adding-value of fresh fruits and vegetables. *J. Food Sci.* 68, 1560-1564
- Civello, P.M.; Vicente, A.R. y Martínez, G.A. (2006) UV-C technology to control postharvest diseases of fruits and vegetables. *Recent Advances in Alternative Postharvest Technologies to Control Fungal Diseases in Fruits & Vegetables*. Transworld Research Network 37/661 (2), Fort P.O., Trivandrum-695 023, Kerala, India
- Civello, P.M.; Vicente, A.R. y Martínez, G.A. (2007) UV-C technology to control postharvest diseases of fruits and vegetables. In: *Recent advances in Alternative Postharvest Technologies to control fungal diseases in fruits & vegetables*. 71-102
- Coelho, M. y Salas-Mellado, M. (2015) Effects of substituting chia (*Salvia hispanica* L.) flour or seeds for wheat flour on the quality of the bread. *LWT - Food Science and Technology*, 60 (1), 729-736
- Collings E.R.; Alamar Gavidia, M.C.; Cools, K.; Redfern, S. y Terry, L.A. (2018) Effect of UV-C on the physiology and biochemical profile of fresh *Piper nigrum* berries. *Postharvest Biology and Technology*, 126, 161-165
- Colombo M. L. (2010) An update on Vitamin E, Tocopherol and Tocotrienol – Perspectives, *Molecules*, 15, 2103-2113
- Concellón, A.; Añón, M.C. y Chavez, A.R. (2004) Characterization and changes in polyphenol oxidase from eggplant fruit (*Solanum melongena* L.) during storage at low temperature. *Food Chem.* 88, 17-24
- Constantini V.; Bellicontro, A.; De Santis, D.; Botondi, R. y Mencarelli, F. (2006) Metabolic Changes of Malvasia Grapes for Wine Production during Postharvest Drying. *J. Agric. Food Chem.*, 54, 3334-3340

- Corpas, E. y Tapasco, O. (2014) Hallazgos de la biosíntesis del etileno en frutas climatéricas y de los factores que afectan la ruta metabólica. *Revista de Alimentos Hoy*, 22(31), 46-63
- CORPOICA (2002) El Cultivo del Lulo. Manual Técnico (1ª ed.). Manizales, Colombia: CORPOICA Regional Nueve
- Correa, M., Pérez, G. y Ferrero, C. (2011) Pectins as Breadmaking Additives: Effect on Dough Rheology and Bread Quality. *Food Bioprocess Technology*, 5(7), 2889-2898
- Correa, M.J. (2012) Efecto de celulosas modificadas y pectinas sobre la microestructura y atributos de calidad de la masa panaria. [Tesis Doctoral] Universidad Nacional de La Plata, La Plata - Argentina
- Correa, M.J.; Salinas, M.V.; Carbas, B.; Ferrero C.; Brites C. y Puppo M.C. (2017) Technological quality of dough and breads from commercial algarroba–wheat flour blends. *J Food Sci Technol.*, 54, 2104
- Costa, M.L., Civello, P.M., Chaves, A.R. y Martínez, G.A. (2005) Effect of hot air treatments on senescence and quality parameters of harvested broccoli (*Brassica oleracea* L. var italica) heads. *J. Sci. Food Agric.* 85, 1154–1160
- Crisosto, C.H., Crisosto, G.M., y Ritenour, M.A. (2002) Testing the reliability of skin color as an indicator of quality for early season “Brooks” (*Prunus avium* L.) cherry. *Postharvest Biology and Technology*, 24, 147–154
- D'hallewin, G.; Schirra, M.; Pala, M. y Ben-Yehoshua, S. (2000) Ultraviolet C irradiation at 0.5 kJ/m² reduces decay without causing damage or affecting postharvest quality of star ruby grapefruit (C. paradisi Macf). *J. Agric. Food Chem.*, 48, 4571-4575
- da Rocha, M. E. B., Freire, F. D. C. O., Maia, F. E. F., Guedes, M. I. F. y Rondina, D. (2014) Mycotoxins and their effects on human and animal health. *Food Control*, 36(1), 159-165.
- Dabbou, S.; Lussiana, C.; Maatallah, S.; Gasco, L.; Hajlaoui, H. y Flamini, G. (2016) Changes in biochemical compounds in flesh and peel from *Prunus persica* fruits grown in Tunisia during two maturation stages. *Plant Physiology and biochemistry*, 100, 1-11
- Dai, J. y Mumper, R. (2010) Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313-7352
- Dalton, T.P.; Shertzer, H.G. y Puga A. (1999) Regulation of gene expression by reactive oxygen. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 39, 67–101
- Damiani, C.; Vilas Boas, E.V de B.; Ferri, P.H.; Pinto, D.M. y Rodrigues, L.J. (2009) Volatile compounds profile of fresh-cut peki fruit stored under different temperatures. *Ciencia y Tecnología de Alimentos. Campinas*, 29 (2), 435-439
- Danza, A.; Mastromatteo, M.; Cozzolino, F.; Lecce, L.; Lampignano, V.; Laverse, J. y Del Nobile, M.A. (2014) Processing and characterization of durum wheat bread enriched with antioxidant from yellow pepper flour. *Source of the Document LWT - Food Science and Technology*, 59 (1), 479-485
- De Ascensao, A.F.R.D.C. y Dubrey, I.A. (2003) Soluble and wall-bound phenolic polymers in *Musa acuminata* roots exposed to elicitors from *Fusarium oxysporum* f.sp. cubens. *Phytochemistry*, 63, 679-686
- de Oliveira, F.; de Franca, P.M.; Pierozan, M.K.; dos Santos, D.; Ribeiro, T.; de Almeida, M.A. y Facchin, A. (2015) Principais micotoxinas que afetam a producao de alimentos. *RAMVI, Getúlio Vargas*, Vol. 2, No. 33. ISSN 2358-2243
- Dean, M.; Raats, M. M. y Shepard, R. (2008) Consumers and functional cereal products. In B. R. Hamaker (Ed.), *Technology of functional cereal products América del Norte*: Woodhead Publishing Limited, pp. 3-18
- Deaquiz, Y.A.; Álvarez-Herrera, J. y Fischer, G. (2014) Ethylene and 1-MCP affect the postharvest behavior of yellow pitahaya fruits (*Selenicereus megalanthus* Haw). *Agronomía Colombiana*, 32 (1), 44-51

- DeEll, J.R.; Lum, G.B. y Ehsani-Moghaddam, B. (2016) Effects of multiple 1-MCP treatments on apple fruit quality and disorders in controlled atmosphere storage. *Postharvest biology and technology*, 111, 93-98
- DeEll, J.R.; Murr, D.P.; Porteous, M.D. y Vasantha Rupasingue, H.P. (2002) Influence of temperature and duration of 1-methylcyclopropene (1-MCP) treatment on apple quality. *Postharvest Biology and Technology*, 24, 349–353
- del Pilar Plinzón, I.M.; Fischer, G. y Corredor, G. (2007) Determinación de los estados de madurez del fruto de la gulupa (*Passiflora edulis* Sims). *Agro Colombiana*, 25 (1) 83-95
- Díaz-Perales, A. (2000) Proteínas de defensa como potenciales panalergenos vegetales: quitinasas de clase I y proteínas de transferencia de lípidos. [Tesis Doctoral] Universidad Politécnica de Madrid. España
- Ding, P.; Rosli, M.F. y Mahassan, N.A. (2015) UV-C irradiation affects quality, antioxidant compounds and activity of Musa AAA berangan. *Sains Malaysiana*. 44 (8) 1095-1101
- Ding, Z. S.; Tian, S. P.; Zheng, X. L.; Zhou, Z. W. y Xu, Y. (2007) Responses of reactive oxygen metabolism and quality in mango fruit to exogenous oxalic acid or salicylic acid under chilling temperature stress. *Physiologia Plantarum*, 130(1), 112-121
- Dixon, R.A. y Paiva, N.L. (1995) Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell*, 7, 1085–1097
- Djanaguiraman, M.; Prasad, P. V. V. y Al-Khatib, K. (2011) Ethylene perception inhibitor 1-MCP decreases oxidative damage of leaves through enhanced antioxidant defense mechanisms in soybean plants grown under high temperature stress. *Environmental and Experimental Botany*, 71(2), 215-223
- Dogan, A.; Kurubas, M.S. y Erkan, M. (2017) The effects of different doses of 1-Methylcyclopropene (1-MCP) on postharvest quality of "Hass" avocado fruit. *Mediterranean Agricultural Sciences*. 30(2), 71-78
- Dong, C. J.; Li, L.; Cao, N.; Shang, Q. M. y Zhang, Z. G. (2015) Roles of phenylalanine ammonia-lyase in low temperature tolerance in cucumber seedlings. *The journal of applied ecology*, 26(7), 2041-2049
- Dong, L.; Lurie, S. y Zhou, H. (2002) Effect of 1-methylcyclopropene on ripening of 'Canino' apricots and 'Royal Zee' plums. *Postharvest Biology and Technology*, 24, 135–145
- Dong, X.; Wang, M.; Ling, N.; Shen, Q. y Guo, S. (2016) Potential role of photosynthesis-related factors in banana metabolism and defense against *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense. *Environmental and Experimental Botany*, 129, 4-12
- Dong, Y.; Liu, L.; Zhao, Z.; Zhi, H. y Huan, J. (2015a) Effects of 1-MCP on reactive oxygen species, polyphenol oxidase activity, and cellular ultra-structure of core tissue in 'Yali' pear (*Pyrus bretschneideri* Rehd.) during storage. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 56(2), 207-215
- Duarte, A.; Núñez, K.; Pacheco, J. y Martínez, J. (2014) Compuestos Volátiles Producidos *in Vitro* por Callos de *Solanum quitoense* Lam. (Solanaceae). *Revista Ciencia en Desarrollo*, 5(1), 49-54
- Dupas, C.; Marsset Baglieri, A.; Ordonaud, C.; Tomé, D. y Maillard, M. N. (2006) Chlorogenic acid is poorly absorbed, independently of the food matrix: A Caco-2 cells and rat chronic absorption study. *Molecular Nutrition & Food Research*, 50, 1053-1060
- Ekman, J.; Clayton, M.; Biasi, W. y Mitcham, E. (2004) Interactions between 1-MCP concentration, treatment interval and storage time for "Barlett" pears. *Postharvest Biology and Technology*, 31, 127-136.
- El Ghaouth, A., Wilson, C. L. y Callahan, A. M. (2003) Induction of chitinase, β -1, 3-glucanase, and phenylalanine ammonia lyase in peach fruit by UV-C treatment. *Phytopathology*, 93(3), 349-355.
- El Gharras, H. (2009) Polyphenols: food sources, properties and applications—a review. *International Journal of food science & technology*, 44(12), 2512-2518
- El Guilli, M.; Hamza, A.; Clément, C.; Ibriz, M. y Barka E.A. (2016) Effectiveness of postharvest treatment with chitosan to control citrus green mold. *Agriculture* (6) 12, 1-15

- El-Demery, M.E. (2011) Evaluation of physico-chemical properties of toast breads fortified with pumpkin (*Cucurbita moschata*) flour. [Tesis] Faculty of Specific Education. Mansoura University. Egypt
- Enciso-Rodríguez, F.E.; González, C.; Rodríguez, E.A.; López, C.E.; Landsman, D.; Barrero, L.S. y Mariño-Ramírez, L. (2013) Identification of Immunity Related Genes to Study the *Physalis peruviana* – *Fusarium oxysporum* Pathosystem. PLOS ON, 8 (7), 1-11
- Erkan, M.; Wang, S.Y. y Wang, C.Y. (2008) Effect of UV treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activity and decay in strawberry fruit. Postharvest Biology and Technology, 48 (2), 163-171
- Erukainure, O.L.; Onifade, O.F.; Odjobo, B.O.; Olasehinde, T.A.; Adesioye, T.A.; Tugbobo-Amisu, A.O.; Adenekan, S.O. y Okonrokwo, G.I. (2017) Ethanol extract of Tetrapleura tetraptera fruit peels: Chemical characterization, and antioxidant potentials against free radicals and lipid peroxidation in hepatic tissues. Journal of Taibah University for Science, 11(6), 861–867
- Estevam Ribeiro, P.R.; Carvalho Dos Santos, R.; Alves Chagas, E.; Melo Filho, A.A.; Montero Fernandez, I.; Cardoso Chagas P.; Abreu H.D. y Goncalves Reis De Melo, A.C. (2018) A-tocopherol in amazon fruits, Chemical Engineering Transactions, 64, 229-234
- Estiarte, N.; Crespo-Sempere, A.; Marín, S.; Sanchis, V. y Ramos, A. J. (2016). Effect of 1-methylcyclopropene on the development of black mold disease and its potential effect on alternariol and alternariol monomethyl ether biosynthesis on tomatoes infected with Alternaria alternata. International Journal of Food Microbiology, 236, 74–82.
- Fabi, J.P.; Cordenunsi, B.R.; de Mattos Barreto, G.P.; Mercadante, A.Z.; Lajolo, F.M. y Oliveira do Nascimento Oliveira, J.R. (2007) Papaya fruit ripening: response to ethylene and 1-methylcyclopropene (1-MCP). J. Agric. Food Chem., 55, 6118-6123
- Fahad, S.; Hussain, S.; Matloob, A.; Khan, F.A.; Khaliq, A.; Saud, S.; Hassan, S.; Shan, D.; Khan, F.; Ullah, N.; Faiq, M.; Khan, M.R.; Khan Tareen, A.; Khan, A.; Ullah, A.; Ullah, N. y Huang, J. (2015) Phytohormones and plant responses to salinity stress: a review. Plant Growth Regul., 75 (2), 391-404
- Faust, M. y Wang, S. (1992) Polyamines in horticultural important plants. Horticultural Reviews ,14, 333-35.
- Fawbush, F., Nock, J. F. y Watkins, C. B. (2009) Antioxidant contents and activity of 1-methylcyclopropene (1-MCP)-treated 'Empire' apples in air and controlled atmosphere storage. Postharvest Biology and Technology, 52(1), 30-37
- Fawole O. y Opara, U. (2013) Effects of maturity status on biochemical content, polyphenol composition and antioxidant capacity of pomegranate fruit arils (cv. "Bhagwa") South African Journal of Botany, 85, 23-31
- Feng, X.; Apelbaum, A.; Sisler, E. C. y Goren, R. (2000) Control of ethylene responses in avocado fruit with 1-methylcyclopropene. Postharvest Biology and Technology, 20(2), 143–150
- Ferreira, M.D.; Franco, T.O.A.; Kasper, R.F.; Ferraz, A.C.O.; Honório, S.L. y Tavares M. (2005) Post-harvest quality of freshmarketed tomatoes as a function of harvest periods. Scientia Agricola (Piracicaba), 62(5), 446-451
- Ferrer, A.; Remón, S.; Neguruela, A.I. y Oria, R. (2005) Changes during the ripening of the very late season Spanish peach cultivar Calanda Feasibility of using CIELAB coordinates as maturity indices, Scientia Horticulturae, 105, 435-446
- Ferreira, R.; Defilippi, B.; Selles, G. y Saavedra, J. (2017) Response of avocado postharvest life to irrigation regimes in 'Hass' (Persea americana). Acta Hortic., 1150, 323-328
- Fischer, G. (2005) Aspectos de la fisiología aplicada de los frutales promisorios en cultivo y poscosecha. Revista Comalfi, 32(1), 22-34
- Florkowski, W.J.; Shewfelt, R.L.; Brueckner, B. y Prussia, S.E. (2014) Postharvest Handling. A systems approach. Ed. AP. 3er edición. Capítulo 4

- Fonseca, J.M. y Rushing, J.W. (2006) Effect of ultraviolet-C light on quality and microbial population of fresh-cut watermelon. *Postharvest Biology and Technology*, 40 (3), 256-261
- Fonseca, S.C.; Oliveira, F.A.R. y Brecht, J.K. (2002) Modelling respiration rate of fresh fruits and vegetables for modified atmosphere packages: a review. *Journal of Food Engineering* 52, 99-119
- Foo, L.W.; Salleh, E. y Mamat, S.N.H. (2016) Extraction and Qualitative Analysis of Piper Betle Leaves for antimicrobial Activities. *International Journal of Engineering Technology Science and Research*. 2, 1-8
- Forero, D.P.; Masatani, C.; Fujimoto, Y.; Coy-Barrera, E.; Peterson, D. y Osorio, C. (2016) Spermidine Derivatives in Lulo (*Solanum quitoense* Lam.) Fruit: Sensory (Taste) versus Biofunctional (ACE-Inhibition) Properties, *Journal Agric. Food Chem*, 64:5375–5383
- Forero, N.; Gutiérrez, S.; Sandoval, R.; Camacho, J. y Meneses, M. (2014) Evaluación poscosecha de las características del lulo (*Solanum quitoense* Lam.) cubierto con hoja de plátano. *Temas Agrar.* (1), 73-85.
- Fraga, C.G.; Oteiza, P.I. y Galleano, M. (2013) *In vitro* measurements and interpretation of total antioxidant capacity. *Biochimica et Biophysica Acta. (BBA) - General Subjects*, 1840 (2), 931-934
- Franco, G.; J. Bernal; M.J. Giraldo; P.J. Tamayo; O. Castaño; A. Tamayo; J.L. Gallego; M.J. Botero; J.E. Rodríguez; N.J. Guevara; J.E. Morales; M. Londoño; G. Ríos; J.L. Rodríguez; J.H. Cardona; J. Zuleta; J. Castaño y M.C. Ramírez. (2002) El cultivo del lulo. Manual técnico. CORPOICA, Regionales cuatro y nueve Fondo Nacional Hortifrutícola - Asohofrucol. Manizales. Colombia 103 p.
- Franco, H.; Chel, L.; Gallegos, S.; Castellanos, A. y Betancur, D. (2017) Physicochemical, rheological, bioactive and consumer acceptance analyses of concha-type Mexican sweet bread containing Lima bean or cowpea hydrolysates. *LWT-Food Science and Technology*. 80(2017), 250-256
- Franz, C. M.; Specht, I.; Cho, G. S.; Graef, V. y Stahl, M. R. (2009) UV-C-inactivation of microorganisms in naturally cloudy apple juice using novel inactivation equipment based on Dean vortex technology. *Food Control*, 20(12), 1103-1107
- Freitas, A.; Moldao-Martins, M.; Costa, H.S.; Albuquerque, T.G.; Valente, A. y Sanches-Silva, A. (2015) Effect of UV-C radiation on bioactive compounds of pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.) by-products. *J. Sci Food Agric.*; 95:44-52
- Gago, C.M.L.; Guerreiro, A.C.; Miguel, G.; Panagopoulos, T.; Sánchez, C. y Antunes, M.D.C. (2015) Effect of harvest date and 1-MCP (SmarthFresch™) treatment on "Golden Delicious" apple cold storage physiological disorders. *Postharvest Biology and Technology*, 110, 77-85
- Gal, S.; Alkalai-Tuvia, S.; Elkind, Y. y Fallik, E. (2006) Influence of different concentrations of 1-methylcyclopropene and times of exposure on the quality of "Galia"-type melon harvested at different stages of maturity. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 81(6), 975–982
- Gan, Z.; Ellis, P.R. y Schofield, J.D. (1995) Gas cell stabilisation and gas retention in wheat bread dough. *Journal of Cereal Science*, 21, 215-230
- Gancel, A.L.; Alter, P.; Dhuique-Mayer, C.; Ruales, J. y Vaillant, F. (2008) Identifying Carotenoids and Phenolic Compounds in Naranjilla (*Solanum quitoense* Lam. Var. Puyo Hybrid), an Andean Fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 (24), 11890-11899
- García, M. y García, H. (2001) Manejo Poscosecha de Mora, Lulo y Tomate de Arbol. Bogotá, Colombia: CORPOICA.
- Gardner D.W.M. y Shama G. (2000) Modeling UVinduced inactivation of microorganisms on surfaces. *Journal of Food Protection* 63(1): 63–70
- Gavilán-Bravo, A. (2007) Ingredientes clave para la innovación de los alimentos: criterios de aplicación. II Congreso de Ingeniería y Biología de los Alimentos. Noviembre 2007. Universidad Politécnica de Cataluña. España.
- Gawlik-Dziki, U.; Dziki, D.; Baraniak, B. y Lin, R. (2009) The effect of simulated digestion in vitro on bioactivity of wheat bread with Tartary buckwheat flavones addition. *LWT - Food Science and Technology*, 42, 137-143.

- Gawlik-Dziki, U.; Swleca, M.; Dziki, D.; Seczyk, L.; Zlotek, U.; Rozylo, R.; Kaszuba, K.; Ryszawy, d. y. Czyz, J. (2014) Anticancer and Antioxidant Activity of Bread Enriched with Broccoli Sprouts. *BioMed Research International*, 14, pages
- Gélinas, P. y McKinnon, C.M. (2006) Effect of wheat variety, farming site, and bread-baking on total phenolics. *International Journal of Food Science and Technology*, 41, 329–332
- Gergoff-Grozeff, G.E.; Alegre, M.L.; Senn, M.E.; Chaves, A.R.; Simontacchi, M. y Bartoli, C.G. (2017) Combination of nitric oxide and 1-MCP on postharvest life of the blueberry (*Vaccinium* spp.) fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 133, 72-80
- Ghaouth, A.; Arul, J.; Ponnampalam, R, y Boulet, M. (1991) Use of chitosan coating to reduce water loss and maintain quality of cucumber and bell pepper fruits, *Journal of Food Processing and Preservation*, 15 (5) 359-368
- Gill, S. y Tuteja, N. (2010) Polyamines and abiotic stress tolerance in plants. *Plant Plant Signaling and Behavior*, 5 (1): 26-33.
- Giovannoni, J. (2001) Molecular biology of fruit maturation and ripening. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 52,725–49
- Golding, J.B.; Shearer, D.; McGlasson, W.B. y Wyllie, S.G. (1999) Relationships between Respiration, Ethylene, and Aroma Production in Ripening Banana. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(4), 1646–1651
- Gómez, P.L.; Schenk, M.L.; Salvatori, D.M. y Alzamora, S.M. (2015) Potential of UV-C Light for Preservation of Cut Apples Fortified with Calcium: Assessment of Optical and Rheological Properties and Native Flora Dynamics. *Food Bioprocess Technology*, 8, 1980
- Gómez-Merino, F.C.; Trejo-Téllez, L.I.; García-Alvarado, J.C. y Cadena-Iñiguez, J. (2014) Lulo (*Solanum quitoense* [Lamarck.]) como cultivo novedoso en el paisaje agroecosistémico mexicano. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas Pub. Esp.*, 9, 1741-1753
- Gong, Y.; Toivonen, P.M.A.; Wiersma, P.A. y Lu, C. (2000) Effect of freezing on the activity of catalase in apple flesh tissue. *J. Agric. Food Chem.*, 48, 5537-5542
- González-Aguilar, G. A.; Villegas-Ochoa, M. A.; Cuamea-Navarro, F. y Ayala-Zavala, J.F. (2006) Efecto de la irradiación UV-C sobre la calidad de mango fresco cortado. In: I Simposio Ibero-Americano de Vegetales Frescos Cortados. G A González-Aguilar y F Cuamea-Navarro (eds). pp: 59-64.
- González-Aguilar, G. A.; Wang, C. Y.; Buta, J. G. y Krizek, D. T. (2001) Use of UV-C irradiation to prevent decay and maintain postharvest quality of ripe ‘Tommy Atkins’ mangoes. *International Journal of Food Science & technology*, 36(7), 767-773
- González-Aguilar, G.; Wang, C.Y. y Buta, G.J. (2004) UV-C irradiation reduces breakdown and chilling injury of peaches during cold storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(5), 415-422
- González-Aguilar, G.A.; Tiznado-Hernández, M.E. y Zavaleta-Gatia, R. (2007) Improving postharvest quality of mango ‘Haden’ by UV-C treatment. *Postharvest Biol. Technol.*, 45, 108–116
- González-Loaiza, D.I.; Ordoñez-Santos, L.E.; Vanegas-Mahecha, P. y Vásquez-Amariles, D.H. (2014) Cambios en las propiedades fisicoquímicas de frutos de lulo (*Solanum quitoense* Lam.) cosechados en tres grados de madurez. *Acta Agronómica*. 63 (1), 11-17
- Grant, J.J. y Loake, G.J. (2000) Role of reactive oxygen intermediates and cognate redox signaling in disease resistance. *Plant Physiol.* 124, 21–29
- Grundy, M.; Grassby, T.; Mandalari, G.; Waldron, K.; Butterworth, P.; Berry, S. y Ellis, P. (2015). Effect of mastication on lipid bioaccessibility of almonds in a randomized human study and its implications for digestion kinetics, metabolizable energy, and postprandial lipemia. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 101(1), 25-33

- Guanathilake, K.; Ranaweera, K. y Rupasinghe, H. (2017) Change of phenolics, carotenoids, and antioxidant capacity following simulated gastrointestinal digestion and dialysis of selected edible green leaves. *Food Chemistry*, 245, 371-379
- Guerrero, L.; Guardia, M. D.; Xicola, J.; Verbeke, W.; Vanhonacker, F.; Zakowska-Biemans, S. y Scalvedi, M. L. (2009) Consumer-driven definition of traditional food products and innovation in traditional foods. A qualitative cross-cultural study. *Appetite*, 52(2), 345-354
- Guerrero, R.F.; Puertas, B.; Fernández, M.I.; Palma, M. y Cantos-Villar, E. (2010) Induction of stilbenes in grapes by UV-C: Comparison of different subspecies of *Vitis*. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11 (1), 231-238
- Guerrero-Beltrán, J. A. y Barbosa-Cánovas, G. V. (2004) Advantages and limitations on processing foods by UV light. *Food science and technology international*, 10(3), 137-147
- Guijarro-Fuertes, M.; Andrade-Cuvi, M.J.; Bravo-Vásquez, J.; Ramos-Guerrero, L. y Vernaza, M.G. (2018) Andean blueberry (*Vaccinium floribundum*) bread: physicochemical properties and bioaccessibility of antioxidants. *Food Science and Technology*, Epub July 30
- Guillén, F. (2009) 1-MCP como estrategia de conservación. *Horticultura Extra 2009 Poscosecha*, 69, 18–24.
- Guillén, F.; Castillo, S.; Zapata, P.J.; Martínez-Romero, D.; Serrano, M. y Valero, D. (2007) Efficacy of 1-MCP treatment in tomato fruit: 1. Duration and concentration of 1-MCP treatment to gain an effective delay of postharvest ripening. *Postharvest Biology and Technology*, 43, 23-27
- Gunduz, G.T.; Juneja, V.K. y Pazir, F. (2015) Application of ultraviolet-C light on oranges for the inactivation of postharvest wound pathogens. *Food Control*, 57, 9-13
- Gutiérrez, D.R.; Char, C.; Escalona, V.H.; Chaves, A.R. y Rodríguez, S.C. (2015) Application of UV-C radiation in the conservation minimally processed rocket (*Eruca sativa* Mill). *Journal of Food Processing and Preservation*, 39, 3117-3127
- Ha, H.C.; Sirisoma, N.S.; Kuppusamy, P.; Zweier, J.L.; Woster, P.M. y Casero, R.A. (1998) The natural polyamine spermine functions directly as a free radical scavenger. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95, 11140-11145
- Ha, S. H.; Kim, J. B.; Park, J. S.; Lee, S. W. y Cho, K. J. (2007) A comparison of the carotenoid accumulation in *Capsicum* varieties that show different ripening colours: deletion of the capsanthin-capsorubin synthase gene is not a prerequisite for the formation of a yellow pepper. *Journal of Experimental Botany*, 58(12), 3135-3144
- Haffner, K.; Rosenfeld, H.J.; Skrede, G. y Wang, L. (2002) Quality of red raspberry *Rubus idaeus* L. cultivars after storage in controlled and normal atmospheres. *Postharvest Biology and Technology*, 24, 279-289
- Hagen, S.F.; Borge, G.I.A.; Bengtsson, G.B.; Bilger, W.; Berge, A.; Haffner, K. y Solhaug, K.A. (2007) Phenolic contents and other health and sensory related properties of apple fruit (*Malus domestica* Borkh, cv. Aroma): effect of postharvest UV-B irradiation. *Postharvest Biology and Technology*, 45 (1), 1-10
- Hajek, A.E.; Nelson, P.E.; Humber, R.A. y Perry, J.L. (1993) Two *Fusarium* species pathogenic to gypsy moth, *Lymantria dispar*. *Mycologia*, 85 (6) 937-940
- Hammond-Kosack, K. y Jones, J.D.G. (2000) Responses to plant pathogens. In *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, eds. BB Buchanan, W Gruissem, RL Jones. pp. 1102–156. Rockville, MD: Am. Soc. Plant Physiol
- Hammond-Kosack, K.E. y Jones, J.D.G. (1996) Resistance gene-dependent plant defense responses. *The Plant Cell*. Vol. 8, 1773-1791
- Han, C.; Zuo, J.; Wang, Q.; Xu, L.; Wang, Z.; Dong, H. y Gao, L. (2015) Effects of 1-MCP on postharvest physiology and quality of bitter melon (*Monardica charatia* L.). *Scientia Horticulturae*, 128, 86-91

- Harasym, J. y Oledzki, R. (2014). Effect of fruit and vegetable antioxidants on total antioxidant capacity of blood plasma. *Nutrition*, 30(5), 511–517
- Hassan, F.A.S. y Mahfouz, S.A. (2012) Effect of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on the postharvest senescence of coriander leaves during storage and its relation to antioxidant enzyme activity. *Scientia horticulturae*, 141, 69-75
- Hawkins, L.A. (1932) Sterilization of citrus fruit by heat. *Citriculture* 9, 21-22.
- He, J.; Ren, Y.; Chen, C.; Liu, J.; Liu, H. y Pei, Y. (2016) Defense responses of salicylic acid in mango fruit against postharvest anthracnose, caused by *Colletotrichum gloeosporioides* and its possible mechanism. *Journal of Food Safety*. 37, 1-10
- He; M., Zeng, J.; Zhai, L.; Liu, Y.; Wu, H.; Zhang, R.; Li, Z. y Xia, E. (2017) Effect of *in vitro* simulated gastrointestinal digestion on polyphenol and polysaccharide content and their biological activities among 22 fruit juices. *Food Research International*. 102, 156-162.
- Hernandez Alarcón, E. (2005) *Evaluación Sensorial*. UNAD, Bogotá-Colombia
- Herrera-Hernández, M.G.; Guevara-Lara, F.; Reynoso-Camacho, R. y Guzmán-Maldonado, S.H. (2011) Effects of maturity stage and storage on cactus berry (*Myrtillocactus geometrizans*) phenolics, vitamin C, betalains and their antioxidant properties. *Food Chemistry*, 129, 1744-1750
- Hidalgo, A. y Brandolini, A. (2008) Kinetics of Carotenoids Degradation during the Storage of Einkorn (*Triticum monococcum* L. ssp. *monococcum*) and Bread Wheat (*Triticum aestivum* L. ssp. *aestivum*) Flours. *J. Agric. Food Chem.*, 56, 11300–11305
- Hideg, E. (2004) Detection of free radicals and reactive oxygen species. *Meth. Mol.Biol.*, 274, 249-260
- Hideg, E. y Vass, I. (1996) UV-B induced free radical production in plant leaves and isolated thylakoid membranes. *Plant Sci*. 115, 251-260
- Hijnen, W.A.M.; Beerendonk, E.F. y Medema, G.J. (2006) Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan (oo)cysts in water: a review. *Water Research*, 40 (1), 3-22
- Hoang, N.T.T.; Golding, J.B. y Wilkes, M.A. (2011) The effect of postharvest 1-MCP treatment and storage atmosphere on “Cripps Pink” apple phenolics and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 127(3), 1249–1256
- Hof, K.H.V.; West, C.E.; Weststrate, J.A. y Hautvast, J.G.A.J. (2000) Dietary factors that affect the bioavailability of carotenoids. *J Nutr.*, 130(3):503–6
- Holcroft, D.M. y Kader, A.A. (1999) Controlled atmosphere-induced changes in pH and organic acid metabolism may affect color of stored strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 17 (1), 19-32
- Holland, N.; Menezes, H.C. y Lafuente, M.T. (2002) Carbohydrates as related to the heat-induced chilling tolerance and respiratory rate of ‘Fortune’ mandarin fruit harvested at different maturity stages. *Postharvest Biology and Technology*, 25, 181–191
- Hua, H.; Liang, Q.; Chen, J.; Wang, Y.; Li, P. y Luo, G. (2011) Development of a derivatization-free GC–FID method for evaluation of free fatty acid levels in plasma of diabetic nephropathy patients. *Chem.Res.*, 27(4), 578–583
- Huan, C.; Jiang, L.; An, X.; Kang, R.; Yu, R.; Ma, R. y Yu, Z. (2016) Potential role of glutathione peroxidase gene family in peach fruit ripening under combined postharvest treatment with heat and 1-MCP. *Postharvest Biology and Technology*, 111, 175-184
- Huang, W.; Cai, Y.; Hyde, K.; Karimi, E. y Jaafar, H.Z.E. (2011) HPLC and GC-MS Determination of Bioactive Compounds in Microwave Obtained Extracts of Three Varieties of *Labisia pumila* Benth. *Molecules*, 16, 6792-6805
- Huang, Y. W. y Toledo, R. (1982) Effect of High Doses of High and Low Intensity UV Irradiation on Surface Microbiological Counts and Storage-Life of Fish. *Journal of Food Science*, 47(5), 1667-1669

- Huber, D. (2009) Suppression of ethylene responses through application of 1-methylcyclopropene: a powerful tool for elucidating ripening and senescence mechanisms in climacteric and nonclimacteric fruits and vegetables. *HortScience*, 43, 106-111
- Huelin, F.E. y Coggiola, J.M. (1970) Superficial scald, a functional disorder of stored apples. VII. Effect of applied -farnesene, temperature and diphenylamine on scald and the concentration and oxidation of farnesene in the fruit. *J. Sci. Food Agric.* 21, 584-589.
- Huyskens-Keil, S.; Eichholz, I.; Kroh, L. W.; Rohn, S. (2007) UV-B induced changes of phenol composition and antioxidant activity in black currant fruit (*Ribes nigrum* L.). *J. Appl. Bot. Food Qual.*, 81, 140-144
- IICA (2007) Guía práctica para la exportación de la naranjilla a EEUU. Instituto interamericano de cooperación para la agricultura - IICA Nicaragua, pp 2-12
- IICA (2011) Cultivos de diversificación para pequeños productores de frijol y maíz en América Central. Naranjilla (lulo) y Cocona - IICA Nicaragua, pp 1-49
- IICA-PROCIANDINO (1996) Manejo pre y postcosecha de frutales y hortalizas para exportación. Edición PROCIANDINO. Quito, Ecuador p97
- In, B.-C.; Motomura, S.; Inamoto, K.; Doi, M. y Mori G. (2007) Multivariate Analysis of Relations between Preharvest Environmental Factors, Postharvest Morphological and Physiological Factors, and Vase Life of Cut 'Asami Red' Roses. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, 76 (1): 66-72
- INIAP (1987) Manual agrícola de los principales cultivos del Ecuador. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias. Proteca MAG-BID-2017 IC/EC Quito, Ecuador. p 150
- Iqbal, Z.; Randhawa, M.A.; Zahoor, T.; Asghar, M. y Beaudry, R. (2018) Influence of 1-methylcyclopropene on physico-chemical properties of "gola" and "surahi" guava (*Psidium guajava* L.) under air storage. *Pak. J. Agri. Sci.*, 55 (2) 389-396
- Irwing, P.; Booth, T. y Hughes, D.J. (2018) The Wiley Handbook of Psychometric testing: A Multidisciplinary reference on survey, scale and test development. First Edition. Chapter 11
- Isaacson, T.; Kosma, D.K.; Matas, A.J.; Buda, G.J.; He, Y.; Yu, B.; Pravitasari, A.; Batteas, J.D.; Stark, R.E.; Jenks, M.A. y Rose, J.K.C. (2009) Cutin deficiency in the tomato fruit cuticle consistently affects resistance to microbial infection and biomechanical properties, but not transpirational water loss. *The Plant Journal*. 60, 363-377
- Itai, A.; Ishihara, K. y Bewley, J. D. (2003) Characterization of expression, and cloning, of β -D-xylosidase and α -L-arabinofuranosidase in developing and ripening tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruit. *Journal of Experimental Botany*, 54(393), 2615-2622
- Jacques, A.C.; Chavez, F.C.; Zambiasi, R.C., Brasil, M.C. y Caramao, E.B. (2014) Bioactive and volatile organic compounds in Southern Brazilian blackberry (*Rubus fruticosus*) fruit cv. Tupy. *Food Sci. Technol*, Campinas, 34 (3) 636-643
- Jagadeesh, L. (2007) Effect of UV-C hormesis on quality attributes of tomatoes during post treatment handling. [Tesis Maestría] McGill University. Canadá
- Jagadeesh, S.L.; Charles, M.T.; Gariepy, Y.M.; Goyette, B.; Raghavan, G.S.V. y Vigneault, C. (2009) Influence of post-harvest UV-C hormesis on the bioactive components of tomato during post-treatment hanging. *Food and Bioprocess Technology*, 4(8), 1463-1472
- Javanmardi, J. y Kubota, C. (2006) Variation of lycopene, antioxidant activity, total soluble solids and weight loss of tomato during postharvest storage. *Postharvest Biology and Technology*, 41 (2) 151-155
- Jeandet, P. (2015) Phytoalexins: Current Progress and Future Prospects. *Molecules*, 20, 2770-2774
- Jeandet, P.; Delaunois, B.; Aziz, A.; Donnez, D.; Vasserot, Y.; Cordelier, S.; Courrot, E. (2012) Metabolic engineering of yeast and plants for the production of the biologically active hydroxystilbene, resveratrol. *J. Biomed. Biotechnol.* 14 pages

- Jeandet, P.; Hébrard, C.; Deville, M.-A.; Cordelier, S.; Dorey, S.; Aziz, A. y Crouzet, J. (2014) Deciphering the Role of Phytoalexins in Plant-Microorganism Interactions and Human Health. *Molecules*, 19, 18033-18056
- Jeong, J.; Brecht, D.; Huber, D. y Sargent, S. (2004) Influence of 1-methylcyclopropene on the shelf life and deterioration of fresh-cut cantaloupe. *HortScience*, 39, 816-825
- Jeong, J.; Huber, D. y Sargent, S. (2001) 1-methylcyclopropene (1-MCP) delays ripening and extends life of Simmonds avocado. *HortScience*, 36(3), 468
- Ji, C. y Kuc, J. (1995) Purification and characterization of an acidic beta-1,3-glucanase from cucumber and its relationship to systemic disease resistance induced by *Colletotrichum lagenarium* and tobacco necrosis virus. *Mol. Plant Microbe Interact.* 8, 899–905
- Jiang, L., Zhang, L., Shi, Y., Lu, Z., & Yu, Z. (2014). Proteomic analysis of peach fruit during ripening upon post-harvest heat combined with 1-MCP treatment. *Journal of Proteomics*, 98, 31–43.
- Jiang, W.; Zhang, M.; He, J. y Zhou, L. (2004) Regulation of 1-MCP treated banana fruit quality by exogenous ethylene and temperature. *Food Technology Science International*, 10(1), 15-20.
- Jiang, Y.; Joyce, D.C. y Terry, L.A. (2001) 1-Methylcyclopropene treatment affects strawberry fruit decay. *Postharvest Biology and Technology*, 23(3), 227-232
- Jiménez, A. M.; Sierra, C. A.; Rodríguez-Pulido, F. J.; González-Miret, M. L.; Heredia, F. J. y Osorio, C. (2011) Physicochemical characterisation of gulupa (*Passiflora edulis* Sims. *foedulis*) fruit from Colombia during the ripening. *Food Res. Intern.*, 44:1912–1918
- Jolliffe, I.T. y Cadima, J. (2016) Principal component analysis: a review and recent developments. *Philos Trans A Math Phys Eng Sci.* 374(2065):20150202.
- Jomori, M.L.L.M.; Kluge, R.A. y Jacomino, A.P. (2003) Cold storage of "Tahiti" lime treated with 1-methylcyclopropene. *Scientia Agricola*, 60 (4) 785-788
- Jordán, M. y Cassaretto, J. (2006) Capítulo XVI: Hormonas y Reguladores del Crecimiento: Etileno, Ácido Abscísico, Brasinoesteroides, Poliaminas, Ácido Salicílico y Ácido Jasmónico. *Fisiología Vegetal*.
- Kader, A. (2007) *Biología y Tecnología Postcosecha: un panorama*. In: Kader, A.A. (Ed.), *Tecnología Postcosecha de cultivos Hortofrutícolas*. Universidad de California
- Kader, A. (2011) *Postharvest technology of horticultural crops*. University of California. 3rd Edition. Chapter 4
- Kang, S.P.; East, A.R. y Trujillo, F.J. (2008) Colour vision system evaluation of bicolour fruit: a case study with "B74" mango. *Postharvest Biology and Technology*, 49, 77-85
- Karimi, E. y Jaafar, H.Z.E. (2011) HPLC and GC-MS Determination of Bioactive Compounds in Microwave Obtained Extracts of Three Varieties of *Labisia pumila* Benth. *Molecules* (16) 6791-6805
- Kays, J. (1997) *Postharvest physiology of perishable plant products*, Georgia Exon Press. Athens. Georgia
- Kevers, C.; Falkowski, M.; Tabart, J.; Defragne, J.O.; Dommes, J. y Pincemail, J. (2007) Evolution of antioxidant capacity during storage of selected fruits and vegetables. *J. Agric. Food Chem.* 55, 8596-8603
- Khademi, O.; Zamani, Z.; Poor Ahmadi, E.; Kalantari, S. (2013) Effect of UV-C radiation on postharvest physiology of persimmon fruit (*Diospyros kaki* Thunb.) cv. 'Karaj' during storage at cold temperature, *International Food Research Journal*, 20(1), 247-253
- Khan, A. S.; Singh, Z. y Swinny, E. E. (2009) Postharvest application of 1-Methylcyclopropene modulates fruit ripening, storage life and quality of "Tegan Blue" Japanese plum kept in ambient and cold storage. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(6), 1272–1280
- Kikot, G.E.; Moschini, R.C.; Consolo, V.F.; Rojo, R.; Salerno, G.; Hours, R.A.; Gasoni, L.; Arambarri, A.M. y Alconada, T.M. (2011) Occurrence of different species of *Fusarium* from wheat in relation to disease levels predicted by a weather-based model in Argentina pampas region. *Mycopathologia*. 171: 139- 149.

- Kim, Y.; Lounds-Singleton, A.J. y Talcott, S.T. (2009) Antioxidant phytochemical and quality changes associated with hot water immersion treatments with mangoes (*Mangifera indica* L.). Food Chemistry, 115, 989–993
- Klein, J.D., Lurie, S. y Ben-Arie, R. (1990) Quality and cell wall components of “Anna” and “Granny Smith” apples treated with heat, calcium and ethylene. J. Am. Soc. Hort. Sci. 115, 954-958
- Klessig, D.F.; Durner, J.; Noad, R.; Navarre, D.A y Wendehenne, D. (2000) Nitric oxide and salicylic acid signaling in plant defense. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97, 8849–55
- Knee, M. (2002) Fruit Quality and its Biological Basis. Sheffield, Reino Unido: Sheffield Academic Press. pp. 180-224.
- Koksel, F., Filiz Koksel, Strybulevych, A., Aritan, S., Page, J., Scanlon, M. (2017) The use of synchrotron X-rays and ultrasonics for investigating the bubble size distribution and its evolution in bread dough. Journal of cereal science, 78(2017), 10-18.
- Koutchma, T.; Forney, L.J.; Moraru, C.I. (2009) Ultraviolet Light in Food Technology: Principles and Applications, CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton, FL, USA, 2009, pp. 2, 69-71
- Kuo, F. L.; Carey, J. B. y Ricke, S. C. (1997) UV irradiation of shell eggs: Effect on populations of aerobes, molds, and inoculated *Salmonella typhimurium*. Journal of Food Protection®, 60(6), 639-643
- Kwak, M.K.; Kensler, T.W. y Casero, R.A. Jr (2003) Induction of phase 2 enzymes by serum oxidized polyamines through activation of Nrf2: effect of the polyamine metabolite acrolein. Biochem Biophys Res Commun., 305(3), 662-70
- Lafontaine, P.J. y Benhamou, N. (1996) Chitosan Treatment: An Emerging Strategy for Enhancing Resistance of Greenhouse Tomato Plants to Infection by *Fusarium oxysporum* f.sp. radicis-lycopersici. Biocontrol Science and Technology, 6(1), 111–124
- Lalel, H.J.D.; Singh, Z. y Tan, S.C. (2003) Glycosidically-bound aroma volatile compounds in the skin and pulp of ‘Kensington Pride’ mango fruit at different stages of maturity. Postharvest Biology and Technology, 29, 205-218
- Lamikanra, O.; Kueneman, D.; Ukuku, D.; BettGarber, K.L., (2005) Effect of Processing Under Ultraviolet Light on the Shelf Life of Fresh-Cut Cantaloupe Melon. Journal of Food Science, 70(9), 534-539
- Lemoine, M.L.; Chavez, A.R. y Martínez, G.A. (2010) Influence of combined hot air and UV-C treatment on the antioxidant system of minimally processed broccoli (*Brassica oleracea* L. var. Italica) LWT - Food Science and Technology, 43, 1313-1319
- Leslie, J.F. y Summerell, B. A. (2006) The Fusarium Laboratory Manual. Ed. Wiley-Blackwell.
- Li, D; Luo, Z.; Mou, W.; Wang, Y.; Ying, T. y Mao, L. (2014) ABA and UV-C effects on quality, antioxidant capacity and anthocyanin contents of strawberry fruit (*Fragaria ananassa* Duch.) Postharvest Biology and Technology, 90, 56–62
- Li, J.; Ma, G.; Ma, L.; Bao, X.; Li, L; Zhao, Q. y Wang, Y. (2018) Multivariate analysis of fruit antioxidant activities of blackberry treated with 1-methylcyclopropene or vacuum precooling. International Journal of Analytical Chemistry. Vol. 2018, Article ID 2416461, 5 pages
- Liang, L.; Wu, X.; Zhao, T.; Zhao, J.; Li, F.; Zou, Y.; Mao, G. y Yang, L. (2012) *In vitro* bioaccessibility and antioxidant activity of anthocyanins from mulberry (*Morus atropurpurea* Roxb.) following simulated gastro-intestinal digestion. Food Research International, 46(1), 76–82
- Liaqat, I.; Ahmed, D.; Saleem, A.; Masih, R. y Chaudhery, R. (2017) Characterization of Natural Products from the Peel of Lagenaria siceraria Fruit Using Chromatographic Techniques. Acta Chromatographica, 1–4
- Liolios, C. C.; Sotiroudis, G. T. y Chinou, I. (2008) Fatty Acids, Sterols, Phenols and Antioxidant Activity of Phoenix theophrasti Fruits Growing in Crete, Greece. Plant Foods for Human Nutrition, 64(1), 52–61
- Liu C.; Cai, L.; Han, X. y Ying Tiejun, T. (2011) Temporary effect of postharvest UV-C irradiation on gene expression profile in tomato fruit. Gene, 486, 56-54

- Liu, C.; Cai, L.; Lu, X.; Han, X. y Ying, T. (2012) Effect of postharvest UV-C irradiation on phenolic compound content and antioxidant activity of tomato fruit during storage. *Journal of integrative agriculture*, 11 (1), 159-165
- Liu, H.; Cao, J. y Jiang, W. (2015) Changes in phenolics and antioxidant property of peach fruit during ripening and responses to 1-methylcyclopropene. *Postharvest Biology and Technology*, 108, 111-118
- Liu, H.; Jian, W., Cao, J. y Ma, L. (2018) A combination of 1-methylcyclopropene treatment and intermittent warming alleviates chilling injury and affects phenolics and antioxidant activity of peach fruit during storage. *Scientia Horticulturae*, 229, 175-181
- Liu, J.; Stevens, C.; Khan, V. A.; Lu, J.Y.; Wilson, C.L.; Adeyeye, O.; Kabwe, M.K.; Pusey, P.L.; Chalutz, E.; Sultana, T. y Droby, S. (1993) Application of ultraviolet-C light on storage rots and ripening of tomatoes. *Journal of Food Protection*, 56, 868-872
- Logrieco, A.; Bottalico, A.; Mule, G.; Moretti, A. y Perrone, G. (2003) Epidemiology of toxigenic fungi and their associated mycotoxins for some Mediterranean crops. *European Journal of Plant Pathology*, 109: 645-667
- Lohani, S.; Trivedi, P. K. y Nath, P. (2004) Changes in activities of cell wall hydrolases during ethylene-induced ripening in banana: effect of 1-MCP, ABA and IAA. *Postharvest Biology and Technology*, 31(2), 119-126.
- Londoño-Londoño, J. (2012) Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. Capítulo 9. En: Biblioteca Digital Lasallista. Editorial: Corporación Universitaria Lasallista. <http://hdl.handle.net/10567/133>
- Long, L.T.; Tien, N.T.T.; Trang, N.H.; Ha, T.T.T.; Hieu, N.M. (2014) Study on Antifungal Ability of Water Soluble Chitosan against Green Mould Infection in Harvested Oranges. *J. Agric. Sci.*, 6, 205
- López-Casado, G.; Matas, A.J.; Domínguez, E.; Cuartero, J. y Heredia, A. (2007) Biomechanics of isolated tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit cuticles: the role of cutin matrix. *J Exp Bot.*, 58, 3875-3883
- López-Jaramillo, P. (2011) Determinación de las Características Fisicoquímicas y Estudio de Índices de Calidad en el Comportamiento Postcosecha de Clones Élite Provenientes de Cruzamientos de Naranja, en la Provincia de Pastaza. [Tesis de Ingeniería Agroindustrial] Universidad Técnica del Norte. Ibarra, Ecuador
- Lopez-Malo, A. y Palou, E. (2005) Ultraviolet light and food preservation. *Novel food processing technologies*, 464-484
- Low, D.; D'Arcy, B. y Gidley, M. (2015) Mastication effects on carotenoid bioaccessibility from mango fruit tissue. *Food Research International*, 67, 238-246
- Lucio, D.; Espín, S. y Soria, N. (1997) Niveles residuales de plaguicidas en frutas andinas: tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*) y naranja (*Solanum quitoense*). Departamento de nutrición y calidad del programa nacional de fruticultura del INIAP, IICA/PROCIANIDINO
- Luckey, T.D. (1980) Hormesis with ionizing radiation, CRC press, Boca Raton.
- Luengwilai, K.; Beckles, D.M.; Roessner, U.; Dias, D.A.; Lui, V.; Siriphanich, J. (2018) Identification of physiological changes and key metabolites coincident with postharvest internal browning of pineapple (*Ananas comosus* L.) fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 137, 55-65
- Lum, G.B.; DeEll, J.R.; Shelp, B.J. y Bozzo, G.G. (2017) Impact of 1-methylcyclopropene and controlled atmosphere on the quality of stored 'AC Harrow Crisp' pears. *Canadian Journal of Plant Science*, 98(2), 505-508
- Luo, Z. (2007) Effect of 1-methylcyclopropene on ripening of postharvest persimmon (*Diospyros kaki* L.) fruit. *LWT* 40, 285-291
- Lurie, S. (1998) Postharvest heat treatments. *Postharvest Biol.Technol.*, 14, 257-269.
- Lurie, S.; Pre-Aymard, C.; Ravid, U.; Larkov, O. y Fallik, E. (2002) Effect of 1-Methylcyclopropene on volatile emission and aroma in Cv. Anna Apples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 4251-4256.

- MAG/IICA (2001) Identificación de mercados y tecnología para productos agrícolas tradicionales de exportación. Convenio MAG/IICA Subprograma de cooperación técnica. Quito, Ecuador
- MAGAP (2011) Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca. Recuperado el 8 de diciembre de 2014, de Principales cultivos del Ecuador (total de superficie cosechada, serie histórica 2000-2010): <http://www.magap.gob.ec>
- Maharaj, R.; Arul, J. y Nadeau, P. (2010) UV-C irradiation of tomato and its effects on color and pigments. *Advances in Environmental Biology*, 4(2), 308-315
- Maharaj, R.; Arul, J. y Nadeau, P. (2014) UV-C irradiation effects on levels of enzymic and non-enzymic phytochemicals in tomato. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 21, 99-106
- Maheshwar, P.K. (2015) Diversity of fusarium species and extent of fumonisin contamination in rice oryza sativa l grown in Karnataka, India. Departamento de Microbiología. [Tesis Doctoral] Universidad de Mysore. India
- Maltini, E.; Torreggiani, D.; Rondo Brovetto, B. y Bertolo, G. (1993) Functional properties of reduced moisture fruits as ingredients in food systems. *Food Research International*, 26, 413-419
- Mancebo, C., Martínez, M., Merino, C., de la Hera, E. y Gómez, M. (2017) Effect of oil and shortening in rice bread quality: relationship between dough rheology and quality characteristics. *Journal of Texture Studies*, 48(6), 597-606.
- Mandal, S.; Mallick, N. y Mitra, A. (2009) Salicylic acid-induced resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in tomato. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47(7), 642-649
- Manenoi, A.; Bayogan, E.R.V.; Thumdee, S. y Paull, R. E. (2007) Utility of 1-methylcyclopropene as a papaya postharvest treatment. *Postharvest Biology and Technology*, 44(1), 55-62
- Manzocco, L.; Plazzotta, S.; Maifreni, M.; Calligaris, S.; Anese, M. y Nicoli, M.C. (2016) Impact of UV-C light on storage quality of fresh-cut pineapple in two different packages. *LWT - Food Science and Technology*, 65, 1138-1143
- Mao, L.C.; Que, F. y Donald, H.J. (2004) 1-Methylcyclopropene and CaCl₂ treatments affect lipolytic enzymes in fresh-cut watermelon fruit. *Acta Botanica Sinica*, 46, 1402-1407
- Marasas, W.F.O. (1986) *Fusarium polyphialidicum*, a new species from South Africa. *Mycologia*, 78(4) 678-682
- Marcos, J.F.; González-Candelas, L. y Zacarías, L. (2005) Involvement of ethylene biosynthesis and perception in the susceptibility of citrus fruits to *Penicillium digitatum* infection and the accumulation of defence-related mRNAs. *Journal of Experimental Botany*, 56, 2183-2193
- Marquenie, D.; Geeraerd, A.H.; Lammertyn, J.; Soontjens, C.; Van Impe, J.F.; Michiels, C.W.; Nicolaï, B.M. (2003) Combinations of pulsed white light and UV-C or mild heat treatment to inactivate conidia of *Botrytis cinerea* and *Monilia fructigena*. *International Journal of Food Microbiology*, 85(1-2), 185-196
- Márquez-Villacorta, L. y Pretell-Vásquez, C. (2013) Irradiación UV-C en frutas tropicales mínimamente procesadas. *Scientia Agropecuaria*, 4, 147-161
- Marti, G.; Schnee, S.; Andrey, Y.; Simoes-Pires, C.; Carrupt, P-A.; Wolfender, J-L y Gindro, K. (2014) Study of Leaf Metabolome Modifications Induced by UV-C Radiations in Representative Vitis, Cissus and Cannabis Species by LC-MS Based Metabolomics and Antioxidant Assays. *Molecules*, 19, 14004-14021
- Martínez, M. G. (Ed.). (2013) Open innovation in the food and beverage industry. Elsevier.
- Martínez-Macías, P. (2015) Operación y mantenimiento de la flota terrestre de transporte de materiales, desechos especiales y peligrosos. Ecuauquímica. Estudio de Impacto Ambiental Ex Post. Ecuauquímica. Guayaquil - Ecuador
- Martínez-Romero, D., Bailén, G., Serrano, M., Guillén, F., Valverde, J. M., Zapata, P., Castillo, S. y Valero, D. (2007) Tools to Maintain Postharvest Fruit and Vegetable Quality through the Inhibition of Ethylene Action: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(6), 543-560.

- Martins, T. R. y Barkman, T. J. (2005) Reconstruction of Solanaceae Phylogeny Using the Nuclear Gene SAMT. *Systematic Botany*, 30 (2), 435-44
- Martyn, R. D. (2014) *Fusarium* Wilt of Watermelon: 120 Years of Research, in *Horticultural Reviews: Volume 42* (ed J. Janick), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey
- Massolo, J. F.; Concellón, A.; Chaves, A. R. y Vicente, A. R. (2011) 1-Methylcyclopropene (1-MCP) delays senescence, maintains quality and reduces browning of non-climacteric eggplant (*Solanum melongena* L.) fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 59(1), 10-15
- Massolo, J.F. (2015) Evaluación del uso de reguladores vegetales y de estrategias de procesamiento para reducir el deterioro postcosecha de zapallitos [Tesis doctoral] Universidad Nacional de La Plata, Argentina
- Matern, U.; Grimmig, B. y Kneusel, R.E. (1995) Plant cell wall reinforcement in the disease-resistance response: molecular composition and regulation. *Canadian Journal of Botany* 73, S511-S517.
- Matsuda R. y Kubota, C. (2010) Variation of Total Soluble Protein Content in Fruit among Six Greenhouse Tomato Cultivars. *HortScience*, 45 (11) 1645-1648
- Maxie, E., Mitchell, G., Sommer, N., Snyder, G. y Rae, H. (1974) Effect of elevated temperature on ripening of "Bartlett pear. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 99, 344-349.
- Mayor-Oxilia, R. (2010) Estrés oxidativo y sistema de defensa antioxidante. *Rev. Inst. Med. Trop.*, 5 (2), 23-29
- McClellan, C. y Chang, C. (2008) The role of protein in ethylene biosynthesis and response. *Plant Science*, 175(1-2), 1-13
- McClements, D. J.; Li, F. y Xiao, H. (2015) The nutraceutical bioavailability classification scheme: Classifying nutraceuticals according to factors limiting their oral bioavailability. *Food Science & Technology*, 6, 13.1-13.29
- Mehinagic, E.; Royer, F.; Bertrand, D.; Symoneaux, R.; Laurens, F. y Jourjon, F. (2003) Relationship between sensory analysis, penetrometry and visible-NIR spectroscopy of apples belonging to different cultivars. *Food Quality and Preference*, 14, 473-484
- Mejía, C.M.; Gaviria, D.; Duque, A.L.; Rengifo, L.; Aguilar, E. y Alegrías, A.H. (2012) Caracterización fisicoquímica de la variedad Castilla del lulo (*Solanum quitoense* Lam.) en seis estados de maduración. *VITAE, Revista De La Facultad De Química Farmacéutica, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia*, 19 (2), 157-165
- Mendoza, R.; Castellanos, D.A.; García, J.C.; Vargas, J.C. y Herrera, A.O. (2016) Ethylene production, respiration and gas exchange modelling in modified atmosphere packaging for banana fruits. *International Journal of Food Science and Technology*, 51, 777-788
- Menezes, T.P.; Ramos, J.D.; Lima, L.C.O.; Costa, A.C.; Nassur, R.M.C.R. y Rufini, L.C.M. (2015) Características físicas e físico-químicas de pitaia vermelha durante a maturacao. *Semina: Ciências agrárias, Londrina*, 36 (2) 361-644
- Meng Z., Wen D., Sun D., Gao F., Li W., Liao Y., Liu H. (2007) Rapid determination of C12-C26 non-derivatized fatty acids in human serum by fast gas chromatography. *J. Sep. Sci.*, 30, 1537-1543.
- Mercado-Mercado, G.; Carillo, R.; Wall, L.; Medrano, A.; López Díaz, J. A. y Álvarez-Parrilla, E. (2013) Polyphenolic compounds and antioxidant capacity of typically consumed species in Mexico. *Nutrición Hospitalaria*, 28(1), 36-46.
- Mertz, C.; Gancel, A.L.; Gunata, Z.; Alter, P.; Dhuique-Mayer, C.; Vaillant, F.; Perez, A.M.; Ruales, J. y Brat, P. (2009) Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity of three tropical fruits. *Journal of food composition and analysis*, 22, 381-387
- Mesas, J. M., y Alegre, M. T. (2002) El pan y su proceso de elaboración. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 3, 307-313
- Michalak, A. (2006) Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Plants Growing under Heavy Metal Stress. *Polish J. Env. Stud.* 15(4)

- Miller, H.E.; Rigelhof, f.; Marquart, I.; Aruna Prakash, R.D. y Kanter, M. (2000) Antioxidant Content of Whole Grain Breakfast Cereals, Fruits and Vegetables. *Journal of the American College of Nutrition*, 19 (3), 312S–319S
- Miranda, L.; DeuBer, H. y Evers, D. (2013) The impact of *in vitro* digestion on bioaccessibility of polyphenols from potatoes and sweet potatoes and their influence on iron absorption by human intestinal cells. *Food & Function*, 4, 1595-1601
- Mittler, R. (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.*, 7, 405-410
- Mittler, R.; Herr, E.H.; Orvar, B.L., van Camp, W. y Willekens, H. (1999) Transgenic tobacco plants with reduced capability to detoxify reactive oxygen intermediates are hyperresponsive to pathogen infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96, 14165–14170
- Mohammadi, M. y Kazemi, H. (2002) Changes in peroxidase and polyphenol oxidase activities in susceptible and resistant wheat heads inoculated with *Fusarium graminearum* and induced resistance. *Plant Sci* 162:491–498
- Moktan, K. y Ojha, P. (2016) Quality evaluation of physical properties, antinutritional factors, and antioxidant activity of bread fortified with germinated horse gram (*Dolichus uniflorus*) flour. *Food Science and Nutrition*, 4 (5), 766-771
- Montes Rojas, C.; Muñoz, L.A.; Teran, V.F.; Prado, F. y Quiñonez, M.A. (2010) Evaluación de patógenos en clones de lulo (*Solanum quitoense* Lam.). *Acta Agronómica*, 59 (2) , 144-154
- Morales, A. R.; Espinosa, G.; Morales, N.; Troya, H. y López, P. (2008) Búsqueda de marcadores moleculares en naranjilla (*Solanum quitoense*), para la resistencia al nematodo (*Meloidogne incognita*) y *Fusarium oxysporum*. Informe Técnico Anual-INIAP (Ecuador).
- Moreno, C.; Andrade, M.J.; Concellón, A. y Díaz, G. (2013) Estudio de la capacidad antioxidante durante el almacenamiento refrigerado de naranjilla (*Solanum quitoense*) tratada con radiación UV-C. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 14(2), 125-132
- Moreno, C.; Andrade-Cuvi, M.J.; Zaro, M.J.; Darre, M.; Vicente, A.R. y Concellón, A. (2017) Short UV-C Treatment Prevents Browning and Extends the Shelf-Life of Fresh-Cut Carambola. *Journal of Food Quality*, Volume 2017, Article ID 2548791, 9 pages
- Moslehpour, M.M.; Aulia, C.K. y Masarie, C.E.L. (2015) Bakery product perception and purchase intention of Indonesian consumers in Taiwan. *International Journal of Business and Information*, 10 (1) 62-94
- Mostofi, Y.; Toivonen, P. M.; Lessani, H.; Babalar, M. y Lu, C. (2003) Effects of 1-methylcyclopropene on ripening of greenhouse tomatoes at three storage temperatures. *Postharvest Biology and Technology*, 27(3), 285-292
- Motallebi, P.; Niknam, V.; Ebrahimzadeh, H.; Hashemi, M. y Enferadi, S. T. (2016) Exogenous Methyl Jasmonate Treatment Induces Defense Response Against *Fusarium culmorum* in Wheat Seedlings. *Journal of Plant Growth Regulation*, 1-12.
- Mozetic, B.; Simcic, M. y Trebse, P. (2006) Anthocyanins and hydroxycinnamic acids of Lambert Compact cherries (*Prunus avium* L.) after cold storage and 1-methylcyclopropene treatment. *Food Chemistry*, 97, 302–309
- Mullins, E.D.; McCollum, T.G. y McDonald, R.E. (2000) Consequences on ethylene metabolism of inactivating the ethylene receptor sites in diseased non-climacteric fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 19, 155–164
- Muñoz, C.A. (2016) Diseño de un producto biofuncional a base de lulo (*Solanum quitoense* Lam.) con aplicación en alimentos. [Tesis de Maestría] Universidad Nacional de Colombia. Colombia
- Muñoz, J.C.; Puentes, A. y Villamizar, F. (1999) Evaluación de pérdidas poscosecha del lulo (*Solanum quitoense* Lam.), comercializado en un empaque tradicional. *Revista Ingeniería e Investigación*, 43, 46-50

- Mwaniki, M.W.; Mathooko, F.M.; Matsuzaki, M.; Hiwasa, K.; Tateishi, A. y Ushijima, K. (2005) Expression characteristics of seven members of the betagalactosidase gene family in "La France" pear (*Pyrus communis* L.) fruit during growth and their regulation by 1-methylcyclopropene during postharvest ripening. *Postharvest Biology and Technology*, 36, 253–263
- Nguyen, C. T.T.; Kim, J.; Sun Yoo, K.; Lim, S. y Lee, E.J. (2014) Effect of Prestorage UV-A, -B, and -C Radiation on Fruit Quality and Anthocyanin of 'Duke' Blueberries during Cold Storage. *J. Agric. Food Chem.*, 62, 12144–12151
- Niggeweg, R.; Michael, A. y Martin, C. (2004) Engineering plants with increased levels of the antioxidant chlorogenic acid. *Nat. Biotechnol.* 22(6), 746-754
- Nigro, F. e Ippolito, A. (2016) UV-C light to reduce decay and improve quality of stored fruit and vegetables: a short review. *Acta Hort.* 1144. ISHS, 293-298
- Nigro, F.; Ippolito, A.; Lattanzio, V.; Di Venere, D. y Salerno, M. (2000) Effect of ultraviolet-C light on postharvest decay of strawberry. *J. Plant Pathology*, 82 (1), 29-37
- NTE INEN 2 303 (2009) Norma Técnica Ecuatoriana. Frutas frescas. Naranja. Requisitos
- NTE INEN ISO 712. Determinación de humedad del pan.
- O'Donnell, K.; Kistler, H.C.; Cigelnik, E. y Ploetz, R.C. (1998) Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: Concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Applied Biological Sciences*, 95, 2044-2049
- Ocamb, C.M.; Juzwik, J. y Martin, F.B. (2002) *Fusarium* spp. and *Pinus strobus* seedling: root disease pathogens and taxa associated with seed. *New Forest*, 24, 76-79
- Ocen, D. y Xu, X. (2013) Effect of citrus orange (*Citrus sinensis*) by product dietary fiber preparations on the quality characteristics of frozen dough bread. *American Journal of Food Technology*, 8(1), 43-53.
- Ochoa, J. y Gallardo, A. (2004) Estudio de la reacción de las accesiones de la sección Lasiocarpa de la familia Solanacea a *Fusarium oxysporum* f. sp, quitoense. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Departamento de Protección Vegetal, Quito, Ecuador, Informe anual, 22
- Ochoa, J.B.; Ellis, M.A. y Alwang, J. (2010) El manejo de la "fusariosis" como base para un cultivo ecológico de naranja en el Ecuador. INIAP. Quito, Ecuador
- Ochoa-Vargas, L.M.; Balaguera-López, H.E.; Ardila-Roa, G.; Pinzón-Sandoval, E.H. y Alvarez-Herrera, J.G. (2016) Crecimiento y desarrollo del fruto de lulo (*Solanum quitoense* Lam.) en el municipio de San Antonio del Tequendama (Colombia). *Corpoica Cienc Tecnol Agropecuaria*, Mosquera (Colombia), 17(3), 347-359
- Okoth, S. y Siameto, E. (2010) Suppression of *Fusarium* spp. in a maize and beans intercrop by soil fertility management. *Journal of Yeast and Fungal Research*, 1(2), 035-043
- Oliveira, H.; Barros, A.S.; Delgadillo, I.; Coimbra, M.A. y Santos, C. (2009) Effects of fungus inoculation and salt stress on physiology and biochemistry of *in vitro* grapevines: Emphasis on sugar composition changes by FT-IR analyses. *Environmental and Experimental Botany*, 65, 1-10
- Olsson, M. E.; Ekvall, J.; Gustavsson, K. E.; Nilsson, J.; Pillai, D.; Sjöholm, I. y Nyman, M. G. (2004) Antioxidants, low molecular weight carbohydrates, and total antioxidant capacity in strawberries (*Fragaria x ananassa*): effects of cultivar, ripening, and storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(9), 2490-2498
- Onyike, N. B. y Nelson, P. E. (1993) The distribution of *Fusarium* species in soils planted to millet and sorghum in Lesotho, Nigeria and Zimbabwe. *Mycopathologia*, 121(2), 105-114
- Ordoñez, L.; Martínez-Girón, J. y Figueroa A. (2016) Effect of the addition of peach palm (*Bactris gasipaes*) peel flour on the color and sensory properties of wheat bread. *Revista de Ciências Agrárias*, 39(3), 456-462

- Ortiz-Araque, L.C.; Rodoni, L.M.; Darré, M.; Ortiz, C.M.; Civello, P.M. y Vicente, A.R. (2018) Cyclic low dose UV-C treatments retain strawberry fruit quality more effectively than conventional pre-storage single high fluence applications. *LWT - Food Science and Technology*
- Oz, A., y Ulukanli, Z. (2013) The effects of calcium chloride and 1- Methylcyclopropene (1-MCP) on the shelf life of mulberries (*Morus alba* L.). *Journal of Food Processing and Preservation*, 38, 1279-1288.
- Palafox-Carlos, H., Ayala-Zabala, J.F., González-Aguilar, G.A. (2011) The Role of Dietary Fiber in the Bioaccessibility and Bioavailability of Fruit and Vegetable Antioxidants. *J Food Sc.*, 76(1), 6-15
- Palazón, J.; Cusidó, R.M. y Morales, C. (2001) Metabolismo y significación biológica de los polifenoles del vino. *Adenología. Revista en enología científica y profesional*. No. 9
- Pan, J.; Vicente, A.R.; Martínez, G.A., Chaves, A.R. y Civello, P.M. (2004) Combined use of UV-C irradiation and heat treatment to improve postharvest life of strawberry fruit. *J. Sci. Food Agric.*, 84: 1831–1838
- Pan, T.T.; Pu, H. y Sun, D.W. (2017) Insights into the changes in chemical compositions of the cell wall of pear fruit infected by *Alternaria alternata* with confocal Raman microspectroscopy. *Postharvest Biology and Technology*, 132, 119-129
- Park, Y.S.; Im, M.H. y Gorinstein, S. (2015) Shelf life extension and antioxidant activity of "Hayward" kiwi fruit as a result of prestorage conditioning and 1-methylcyclopropene treatment. *Food Chem.*, 97, 302-309
- Park, Y.S.; Jung, S.T.; Kang, S.G.; Drzewiecki, J.; Namiesnik, J.; Haruenkit, R.; Barasch, D.; Trakhtenberg, S. y Gorinstein, S. (2006) *In vitro* studies of polyphenols, antioxidants and other dietary indices in kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 57, 107–122
- Parr, A.J.; Mellon, F.A.; Colquhoun, I.J. y Davies, H.V. (2005) Dihydrocaffeoyl Polyamines (Kukoamine and Allies) in Potato (*Solanum tuberosum*) Tubers Detected during Metabolite Profiling. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 5461–5466
- Parra, A. y Fischer, G. (2013) Ripening and postharvest behavior in the pineapple guava (*Acca sellowiana* (O. Berg) Burret). A review. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 7 (1), 98-110
- Parthasarathy, S.; Thiribhuvanamala, G.; Subramanian, S.; Paliyath, G.; Jayasankar, S. y Prabakar, K. (2017) Volatile metabolites fingerprinting to discriminate the major post harvest diseases of mango caused by *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. and *Lasiodiplodia theobromae* Pat. *Annals of Phytomedicine*, 6(2): 55-62
- Pastrana E. (1998) Manejo postcosecha y comercialización de Lulo (*Solanum quitoense* Lam.). Serie de paquetes de capacitación sobre manejo post-cosecha de frutas y hortalizas No.11. Programa Nacional del SENA de Capacitación en Manejo Post-Cosecha y Comercialización de Frutas y Hortalizas, Convenio SENA - Reino Unido, Centro Agroindustrial del SENA
- Pataro, G.; Sinik, M.; Capitoli, M.M.; Donsi, G. y Ferrari, G. (2015) The influence of post-harvest UV-C and pulsed light treatments on quality and antioxidant properties of tomato fruits during storage. *Innovative food science and emerging technologies*, 30, 103-111
- Pathak, D.; Majumdar, J.; Raychaudhuri, U. y Chakraborty, R. (2016) Characterization of physicochemical properties in whole wheat bread after incorporation of ripe mango peel. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 10(3), 554
- Patiño, V.M. (1963) Plantas cultivadas y animales domésticos en América Equinoccial. Capítulo VIII. Frutos y semillas. Gútfieras a cucurbitáceas. Parte 4. Ed. Cali, Imprenta Departamental, Cali-Colombia
- Patrignani M.; Rinaldi, G.J.; Rufián-Henares, J.A. y Lupano, C.E. (2018) Antioxidant capacity of Maillard reaction products in the digestive tract: An *in vitro* and *in vivo* study. *Food Chem.* In press.
- Paull, R. y Chen, N. (2000) Heat treatment and fruit ripening. *Postharvest Biology and Technology*, 21, 21-37
- Pawar, V.C. y Thaker, V.S. (2007) *World J Microbiol Biotechnol*, 23, 1099

- Penta, P.; Bowyer, M.C.; Scarlett, C.J.; Vuong, Q.V.; Stathopoulos, C.E. y Golding, J.B. (2017) The Effect of Postharvest UV-C Treatment and Associated with Different Storage Conditions on the Quality of Tahitian Limes (*Citrus latifolia*). *J Food Nutr Disord.*, 6 (4)
- Pérez-López, A.; Chávez-Franco, S.H.; Villaseñor-Perea, C.A.; Espinoza-Solares, T.; Hernández-Gómez, L.H. y Lobato-Calleros, C. (2014) Respiration rate and mechanical properties of peach fruit during storage at three maturity stages. *Journal of food engineering*, 142, 111-117
- Perkins-Veazie, P.; Collins, J.K. y Howard, L. (2008) Blueberry fruit response to postharvest application of ultraviolet radiation. *Postharvest biology and technology*, 47, 280-285
- Pinzón, I.M; Fischer, F. y Corredor, G. (2007) Determinación de los grados de madurez del fruto de la gulupa (*Passiflora edulis* Sims.) *Agronomía Colombiana*, 25(1), 83-95
- Pombo M.A.; Dotto, M.C.; Martínez, G.A. y Civello P.M. (2009) UV-C irradiation delays strawberry fruit softening and modifies the expression of genes involved in cell wall degradation. *Postharvest Biology and Technology*, 51, 141-148
- Pombo, M. A.; Rosli, H. G.; Martínez, G. A. y Civello, P. M. (2011) UV-C treatment affects the expression and activity of defense genes in strawberry fruit (*Fragaria × ananassa*, Duch.). *Postharvest biology and technology*, 59(1), 94-102
- Pompella A.; Sies H.; Wacker R.; Brouns F.; Grune T.; Biesalski H.K. y Frank J. (2014) The use of total antioxidant capacity as surrogate marker for food quality and its effect on health is to be discouraged. *Nutrition*, 30 (7-8), 791-793
- Pongprasert, N. y Srilaong, V. (2014) A novel technique using 1-MCP microbubbles for delaying postharvest ripening of banana fruit. *Postharvest Biology and Technology* (95), 42-25
- Pongprasert, N.; Sekozawa, Y.; Sugaya, S. y Gemma, H. (2011) A novel postharvest UV-C treatment to reduce chilling injury (membrane damage, browning and chlorophyll degradation) in banana peel. *Scientia Horticulturae*, 130(1), 73-77
- Pongprasert, N.; Sekozawa, Y.; Sugaya, S. y Gemma, H. (2011a) The role and mode of action of UV-C hormesis in reducing cellular oxidative stress and the consequential chilling injury of banana fruit peel. *International Food Research Journal*, 18 (2)
- Pontón, J. (2008) La pared celular de los hongos y el mecanismo de acción de la anidulafungina. *Rev. Iberoamericana Micol.*, 25, 78-82
- Porat, R.; Weiss, B.; Cohen, L.; Daus, A.; Goren, R. y Droby, S. (1999) Effects of ethylene and 1-methylcyclopropene on the postharvest qualities of "Shamouti" oranges. *Postharvest Biology and Technology*, 15(2), 155-163
- Porrit, S.W. y Lidster, P.D. (1978) The effect of prestorage heating on ripening and senescence of apples during cold storage. *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 103, 584-587
- Porto-Pinto, E.; Perin Ellen C.; Bulsing Schott, I.; da Silva Rodrigues, R.; Lucchetta, L.; Manfro, V. y Valmor Rombaldi, C. (2016) The effect of postharvest application of UV-C radiation on the phenolic compounds of conventional and organic grapes (*Vitis labusca* cv. Concord) *Post. Biol. Tech.*, 120, 84-91
- Poyesh, D.S.; Terada, N.; Sanada, A.; Gemma, H. y Koshio, K. (2017) Effect of 1-MCP on ethylene regulation and quality of apple, apricot and asparagus. *J. ISSAAS*, 23 (1), 90-102
- Pozzi, C. R.; Arcaro, J.R.P.; Júnior, I.A.; Fagundes, H. y Corrêa, B. (2002) Aspectos relacionados à ocorrência e mecanismo de ação de fumonisinas. *Ciência Rural*, 32, 901-907
- Prior, R. L.; Cao, G.; Martin, A.; Sofic, E.; McEwen, J.; O'Brien, C. y Mainland, C.M. (1998) Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinium* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(7), 2686-2693
- Pristijono, P.; Papoutsis, K.; Scarlett, C.J.; Bowyer, M.C.; Vuong, Q.V. y Stathopoulos, C.E. (2017) Postharvest UV-C treatment combined with 1-methylcyclopropene (1-MCP), followed by storage in

- continuous low-level ethylene atmosphere, improves the quality of tomatoes. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 92 (5) 521-529
- PROECUADOR (2014) Análisis Sectorial Frutas exóticas. Ministerio de Comercio Exterior. Instituto de promoción de exportaciones e inversiones. www.proecuador.gob.ec
- Promyou S. y Supapvanich, S. (2012) Effect of ultraviolet-C (UV-C) illumination on postharvest quality and bioactive compounds in yellow bell pepper fruit (*Capsicum annum* L.) during storage. *African Journal of Agricultural Research*, 7 (28), 4058-4096
- Pulido, R.; Bravo, L. y Saura-Calixto, F. (2000) Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *J. Agric. Food Chem.* 48, 3396-3402
- Quast, E.; Vieira, I.; Nogueira, A. y Schmidt, F.L. (2013) Chemical and physical characterization of mume fruit collected from different locations and at different maturity stages in Sao Paulo State. *Food Sci. Technol. Campinas*, 33(3), 441-445
- Rahman, M.A.; Miarunddin, M.; Khan, M.H.H., Masud, M.A.T. y Begum, M.M. (2013) Effect of storage periods on postharvest quality of pumkin. *Bangladesh J. Agril. Res.* 38(2), 247-255
- Ramírez, F.; Kallarackal, J. y Davenport, T. L. (2018) Lulo (*Solanum quitoense* Lam.) reproductive physiology: A review. *Scientia Horticulturae*, 238, 163–176
- Rawat, S. (2015) Food spoilage: microorganisms and their prevention. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 5(4), 47-56
- Razzaq, K.; Singh, Z.; Khan, A.S.; Khan, S.A.K.U. y Ullah, S. (2015) Role of 1-MCP in regulating “Kensington Pride” mango fruit softening and ripening. *Plant Growth Regulation*, 78(3), 401–411
- Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M. y Rice-Evans, C. (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radicals in Biology and Medicine*: 26 (9/10), 1231– 1237
- Reid, M. y Staby, G. (2008) A brief history of 1-Methylcyclopropene. *Horticulture Science*, 43(1), 83-85
- Reis, R.; Ramos, A.; Regazzi, A.; Minim, V. y Stringueta, P. (2006). Almacenamiento de mango secado: análisis fisicoquímico, microbiológico, color y sensorial. *Cienc. Tecnol. Aliment.*, 5(3), 214–225
- Revelo, J.; Viteri, P.; Vásquez, W.; Valverde, F.; León, J. y Gallegos, P. (2010) Manual del cultivo ecológico de la naranjilla. Manual Técnico No. 77. INIAP. Quito, Ecuador. 120p
- Ribeiro de Araujo, D.; Pereira de Lucena, E.M.; Palmeira Gomes, J.; Feitosa de Figueiredo, R.M.; Pontes da Silva, C. (2016) Characterization of ripening stages of myrtle fruit. *Rev. Bras. Frutic. Jaboticabal - SP*, 38 (2) 1-10
- Rivera-Pastrana, D.M.; Gardea-Béjar, A.A.; Martínez-Téllez, M.A.; Rivera-Domínguez, M. y González-Aguilar, G.A. (2007) Efectos bioquímicos postcosecha de la irradiación UV-C en frutas y hortalizas. *Rev. Fitotec. Mex.*, 30 (4), 361 – 372
- Rizzolo, A.; Grassi, M. y Vanoli, M. (2014) 1-Methylcyclopropene application, storage temperature and atmosphere modulate sensory quality changes in shelf-life of ‘Abbé Fétel’ pears. *Postharvest Biology and Technology*, 92, 87-97
- Robles, P.; de Campos, A.; Artés-Hernández, F.; Gómez, P.; Calderón, A.; Ferrer, M. y Artés, F. (2007) Combined effect of UV–C radiation and controlled atmosphere storage to preserve tomato quality. V Congreso Iberoamericano de Tecnología Postcosecha y Agroexportaciones. Cartagena, Spain. 29 May to 1 June
- Rocha, A.M.C.N. y Morais, A.M.M.B. (2001) Polyphenoloxidase activity and total phenolic content as related to browning of minimally processed ‘Jonagored’ apple. *Science of Food and Agriculture*. 82 (1) 120-126
- Rodoni, L.; Casadei, N.; Concellón, A.; Chaves, A.R. y Vicente, A.R. (2010) Effect of short-term ozone treatments on tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit quality and cell wall degradation. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 58 (1), 594–599

- Rodoni, L.; Hasperué, J.H.; Ortiz, CM.; Lemoine, M.L.; Concellón, A. y Vicente, AR. (2016) Combined use of mild heat treatment and refrigeration to extend the postharvest life of organic pepper sticks, as affected by fruit maturity stage. *Postharvest Biology and Technology*, 117, 168-176
- Rodoni, L.M.; Zaro, M.J.; Hasperué, J.H.; Concellón, A. y Vicente, A.R. (2015) UV-C treatments extend shelf life of fresh-cut peppers by delaying pectin solubilization and inducing local accumulation of phenolics. *LWT Food Science and Technology* 63 (1) 408-414
- Rodov, V.; Agar, T.; Peretz, J.; Nafussi, B.; Kim, J.J. y Ben-Yehoshua, S. (2000) Effect of combined application of heat treatments and plastic packaging on keeping quality of 'Oroblanco' fruit (*Citrus grandis* L. x *C. paradisi* Macf.). *Postharvest Biol. Technol.*, 20, 287-294
- Rodrigo, M.J. y Zacarías, L. (2007) Effect of postharvest ethylene treatment on carotenoid accumulation and the expression of carotenoid biosynthetic genes in the flavedo of orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) fruit. *Postharv. Biol. Technol.*, 43(1), 14-22
- Rodríguez, L.; López, L. y García, M. (2010) Determinación de la composición química y actividad antioxidante en distintos grados de madurez de frutas de consumo habitual en Colombia, mora (*Rubus glaucus* B.), maracuyá (*Passiflora edulis* S.), guayaba (*Psidium guajava* L.) y papayuela (*Carica cundinam*) *ACTA*, 19 (21)
- Rodríguez, M.; Rojas, M.; Elez, P. y Martín, O. (2013) Soymilk phenolic compounds, isoflavones and antioxidant activity as affected by *in vitro* gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*, 136, 206-212
- Rodríguez-Roque, M.J.; Rojas Graü, M.A.; Elez Martínez, P. y Martín Belloso, O. (2013) Changes in Vitamin C, Phenolic, and Carotenoid Profiles Throughout *in Vitro* Gastrointestinal Digestion of a Blended Fruit Juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 1859-1867
- Romero-Ayala, K., Moreno-Guerrero, C., Andrade-Cuvi, M.J., Concellón, A. Efecto del uso combinado de la radiación UV-C y atmósfera modificada sobre el contenido de compuestos antioxidantes en mora de Castilla (*Rubus glaucus*) sin espinas almacenada en refrigeración. VII Jornadas Argentinas de Biología y Tecnología Postcosecha. 28 al 30 de mayo de 2014. La Plata, Argentina. Resumen 1-9. Libro de Actas: pág 31.
- Rosa, C.I.L.F.; Clemente, E.; Menezes Oliveira, D.; Todisco, K.M.; Correia da Costa, J.M. (2016) Effects of 1-MCP on the post-harvest quality of the orange cv. Pera stored under refrigeration. *Revista Ciência Agronômica*, 47 (4), 624-632
- Rosli, H.G. (2007) Degradación de pared celular en frutillas. Análisis de sus componentes, evolución de la actividad enzimática y expresión de genes asociados. [Tesis doctoral] Universidad Nacional de General San Martín. Argentina
- Rotondo, R.; Ferratto, J.A. y Firpo, I.T. (2008) Hortalizas mínimamente procesadas o de IV Gama. *Revista agromensajes de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Rosario, Argentina*. No. 26
- Rubini, M.R.; Silva-Ribeiro, R.T.; Pomella, A.W.V.; Maki, C.S.; Araújo, W.L.; Santos, D.R.D. y Azevedo, J.L. (2005) Diversity of endophytic fungal community of cacao (*Theobroma cacao* L.) and biological control of *Crinipellis perniciosus*, causal agent of Witches' Broom Disease. *Int J Biol Sci.*, 1(1), 24-33
- Rudell, D.R.; Mattheis, J.P. y Hertog, M.L.A.T.M., (2009) Metabolomic change precedes apple superficial scald symptoms. *J. Agric. Food. Chem.*, 57, 8459-8466
- Rupp, W.D. (1996) DNA repair mechanisms. En: "*Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. Cellular and molecular biology", 2ª edición (F.C. Neidhart, ed.). American Society for Microbiology Press. Washington, D.C. 2277-2294.
- Ryan, J. M. y Revilla, E. (2003) Anthocyanin composition of Cabernet Sauvignon and Tempranillo grapes at different stages of ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(11), 3372-3378
- Salazar, R.; Piedra D.; y Escarabay, P. (2007) Propiedades fisicoquímicas de cinco frutas de la zona sur del Ecuador para su industrialización. *Alimentos, Ciencia e Ingeniería* 16 (2), 20-24

- Salinas, M.; Carbas, B.; Brites, C. y Puppo, M. (2015) Influence of Different Carob Fruit Flours (*Ceratonia siliqua* L.) on Wheat Dough Performance and Bread Quality. *Food Bioprocess Technology*, 8(7), 1561-1570
- Salinas, M.; Zuleta, A.; Ronayne, P. y Puppo, M. (2016) Wheat bread enriched with organic calcium salts and inulin. A bread quality study. *Journal of Food Science Technology*, 53(1), 491-500
- Salvador, A.; Carvalho, C.P.; Monterde, A. y Martínez-Jávega, J.M. (2006) Note. 1-MCP Effect on Chilling Injury Development in "Nova" and "Ortanique" Mandarins. *Food Science and Technology International*, 12(2), 165–170
- Salvador, A.; Sanz, T. y Fiszman, S. M. (2007) Changes in colour and texture and their relationship with eating quality during storage of two different dessert bananas. *Postharvest biology and technology*, 43(3), 319-325
- Salvador-Vallejo L.; Bravo-Vasquez J.; Beltrán-Sinchiguano, E.; Moreno-Guerrero, C.; Andrade-Cuvi M.J. y Concellón A. (2014) Efecto de la radiación UV-C sobre la flora nativa en la mora de Castilla (*Rubus glaucus*) sin espinas. 9º Congreso Iberoamericano de Ingeniería de Alimentos-CIBIA. 13 al 16 de enero de 2014, Valencia España. Libro de Resúmenes, Pág. 296
- Samson, A.; Huekstr, S.; Friesvad, C. y Eilterburg, O. (1995) Introduction to food-Borne fungi. Ed. pp 85-101
- Sánchez-Domínguez, D.; Ríos, M.Y.; Castillo-Ocampo, P.; Zavala-Padilla, G.; Ramos, M. y Bautista-Baños, S. (2011) Cytological and biochemical changes induced by chitosan in the pathosystem *Alternaria alternata*-tomato. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 99, 250-255
- Sapers, G.M.; Gorny, J.R. y Yoused, A.E. (2006) Microbiology of fruits and vegetables. CRC Press Taylor & Francis Group. USA. Cap. 3
- Schadel, W.E. y Walter Jr., W.M. (1981) Localization of phenols and polyphenol oxidase in "Jewel" sweet potatoes (*Ipoema batatas* "Jewel"). *Canadian Journal of Botany*. 59(10), 1961-1967
- Scheepens, A.; Kee, T. y Paxton, J.W. (2010) Improving the oral bioavailability of beneficial polyphenols through designed synergies. *Genes & Nutrition*, 5, 75–87
- Scott, G.; Rupar, M.; Fletcher, A.G.D; Dickinson, M. y Shama, G. (2017) A comparison of low intensity UV-C and high intensity pulsed polychromatic sources as elicitors of hormesis in tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 125, 52–58
- Sęczyk, L.; Świeca, M. y Gawlik-Dziki, U. (2016) Effect of carob (*Ceratonia siliqua* L.) flour on the antioxidant potential, nutritional quality, and sensory characteristics of fortified durum wheat pasta. *Food Chemistry*, 194, 637-642
- Segado, P.; Domínguez, E. y Heredia, A. (2016) Ultrastructure of the epidermal cell wall and cuticle of tomato fruit (*Solanum lycopersicum* L.) during development. *Plant Physiology*. 170(2): 935-946
- Selvarajah, S.; Bauchot, A. y John, P. (2001) Internal browning in cold-stored pineapples is suppressed by a postharvest application of 1-methylcyclopropene. *Postharvest Biology and Technology*, 23(2), 167–170
- Sempere, F.; García, F. y Santamarina, M.P. (2004) Caracterización morfológica y cultural de *Fusarium culmorum* (W.G. Smith) Sacc. 26as Jornadas de Productos Fitosanitarios. Póster Técnico. España. Phytoma No. 162
- Sermakkani, M. y Thangapandian, V. (2012) CG-MS analysis o f *Cassia italica* leaf methanol extract. *Asian Journal of Pharmaceutical and clinical research*, 5 (2), 91-94
- Serrano, J.; Goñi, I. y Saura-Calixto, F. (2007) Food antioxidant capacity determined by chemical methods may underestimate the physiological antioxidant capacity. *Food Research International*, 40, 15-21
- Severo, J.; Tiecher, A.; Pirrello, J.; Regad, F.; Latché, A.; Pech, J.C.; Bouzayen, M. y Rombaldi, C.V. (2015) UV-C radiation modifies the ripening and accumulation of ethylene response factor (ERF) transcripts in tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 102, 9-16

- Seymour, G.B.; N'diaye, M.; Wainwright, H. y Tucker, G.A. (1990) Effects of cultivar and harvest maturity on ripening of mangoes during storage, *Journal of Horticultural Science*, 65 (4), 479-483
- Shaham, Z.; Lars, A. y Lurie, S. (2003) Effect of heat or 1-methylcyclopropene on antioxidative enzyme activities and antioxidants in apples in relation to superficial scald development. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 128 (5), 761-766
- Shahidi, F. y Naczk, M. (1995) in *Food phenolics: Sources, chemistry, effects and applications*, Technomic. 946 Publisher, Lancaster, PA, pp. 171–191.
- Shama, G. y Alderson, P. (2005) UV hormesis in fruits: a concept ripe for commercialization. *Trends in Food Science & Technology*, 16(4), 128-136
- Siddiqui, M.W. (2015) *Postharvest biology and technology of horticultural crops*. Apple Academic Press. CRC Press. Chapter 2
- Sies H. (1985) Oxidative stress: introductory remarks. In: Sies H., editor. *Oxidative Stress*. Academic Press; London: pp. 1–8
- Silva, W.; Gómez, P.; Viera, W.; Sotomayor, A.; Viteri, P. y Ron, L. (2016) Selección de líneas promisorias de naranjilla para mejorar la calidad de la fruta. *Ecuador es Calidad: Revista Científica Ecuatoriana*, 3, 23-29
- Silveira Coelho, M. y Salas-Mellado, M. (2015) Effects of substituting chia (*Salvia hispanica* L.) flour or seeds for wheat flour on the quality of the bread. *LWT - Food Science and Technology*, 60 (1), 729-736
- Singh, J.; Bhatnagar, P.; Chauhan, P.S.; Mishra, A.; Arya, C.K., Jain, S.K. y Kavita, A. (2011) Harvest maturity in fruits: a review. *Indian Forester* p.589
- Singh, R. K.; Chaurasia, A. K.; Bari, R. y Sane, V. A. (2017) Tocopherol levels in different mango varieties correlate with MiHPPD expression and its over-expression elevates tocopherols in transgenic *Arabidopsis* and tomato. *3 Biotech*, 7(5).
- Singh, Z.; Singh, R.K.; Sane, V.A. y Nath, P. (2013) Mango-postharvest biology and biotechnology. *Crit Rev Plant Sci.*, 32,217–236
- Singleton, V.L. y Rossi, Jr. J.A. (1995) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, 16, 144-158
- Sinha, R. P. y Häder, D. P. (2002) UV-induced DNA damage and repair: a review. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 1(4), 225-236
- Sisler, E. y Serek, M. (1997) Inhibitors of ethylene responses in plants at the receptor level: Recent developments. *Physiologia plantarum*, 100 (3), 577-582
- Sisler, E.C. (2006) The discovery and development of compounds counteracting ethylene at the receptor level. *Biotechnology Advances*, 24, 357–367
- Soe Win; Buanong, M.; Kanlayanarat, S. y Wongs-Aree, C. (2015) Response of gac fruit (*Momordica cochinchinensis* Spreng) to postharvest treatments with storage temperature and 1-MCP. *International Food Research Journal* 22(1): 178-189
- Soler-Cantero, A. (2009) Estudio de la capacidad antioxidante y la biodisponibilidad de los compuestos fenólicos del aceite de oliva. [Tesis Doctoral] Universidad de Lleida, España
- Song, G. y Ming, H. (2010) Bioavailability Challenges Associated with Development of Anti-Cancer Phenolics. *Mini Rev Med Chem*, 10(6), 550-567
- Sosa, M.C. (2009) Prospección de enemigos naturales del barrenador del fruto (*Neoleucinodes elegantalis* (Guenée) de la naranjilla (*Solanum quitoense*) y evaluación de la incidencia de las plagas en su cultivo. [Tesis Facultad de Ciencias agrícolas] Universidad Central del Ecuador. Quito, Ecuador
- Sozzi, G.O. y Beaudry, R.M. (2007) Current perspectives on the use of 1-methylcyclopropene in tree fruit crops: An international survey. *Stewart Postharvest Review*, 2-8
- Stearns, J. y Glick, B. (2003) Transgenic plants with altered ethylene biosynthesis or perception. *Biotechnology Advances*, 21, 193-210

- Stermer, R. A.; Lasater-Smith, M. y Brasingtoni, C. F. (1987) Ultraviolet radiation—an effective bactericide for fresh meat. *Journal of Food Protection*®, 50(2), 108-11
- Stevens C.; Liu, J.; Khan, V.A.; Lu, J.Y.; Wilson, C. L.; Igwegbe, E.C.K.; Kabwe, M.K.; Chalutz, E. y Droby, S. (1998) Application of hormetic UV-C for delayed ripening and reduction of *Rhizopus* soft rot in tomatoes: the effect of tomatine on storage rot development. *J. Phytopathol.*, 146, 211-221.
- Su, H. y Gubler, D. (2012) Effect of 1-methycyclopropene (1-MCP) on reducing postharvest decay in tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.) *Postharvest Biology and Technology*, 64, 133-137
- Sui, X.; Yap, P.Y. y Zhou, W. (2015) Anthocyanins during baking: Their degradation kinetics and impacts on color and antioxidant capacity of bread. *Food Bioprocess Technology*, 8(5), 983-994
- Sui, X.; Zhang, Y. y Weibiao, Z. (2016a) Bread fortified with anthocyanin-rich extract from black rice as nutraceutical sources: Its quality attributes and *in vitro* digestibility. *Food Chemistry*, 196, 910-916
- Sui, Y.; Wisniewski, M. Droby, S; Norelli, J y Liu, J. (2016) Recent advances and current status of the use of heat treatments in postharvest disease management systems: Is it time to turn up the heat?. *Trends in Food Science & Technology*, 51, 34-40
- Sun, B.; Yan, H.; Liu, N.; Wei, J. y Wang, Q. (2012) Effect of 1-MCP treatment on postharvest quality characters, antioxidants and glucosinolates of Chinese kale. *Food chemistry*, 131(2), 519-526
- Sung Kim, D. y Kook Hwang, B. (2014) An important role of the pepper phenylalanine ammonia-lyase gene (PAL1) in salicylic acid-dependent signalling of the defence response to microbial pathogens. *Journal of Experimental Botany*, Volume 65, (9), 1, 2295–2306
- Sun-Waterhouse, D. (2011) The development of fruit-based functional food targeting the health and wellnes market: a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 46, 899-920
- Surco, J. y Alvarado, A. (2010) Harinas compuestas de Sorgo-Trigo para panificación. *Revista Boliviana de Química*. Volumen 27, No. 1
- Świeca, M.; Sęczyk, Ł.; Gawlik-Dziki, U. y Dziki, D. (2014) Document Bread enriched with quinoa leaves - The influence of protein-phenolics interactions on the nutritional and antioxidant quality. *Food Chemistry*, 162, 54-62
- Taiz, L. y Zeiger, E. (2006) Secondary Metabolites and Plant Defense. *Plant Physiology*, Fourth Edition En: Taiz, L. and Zeiger, E (eds). Sinauer Associates, Inc.
- Tapia, C.; Velásquez, J.; Estrella, J. y Cazar, E. (1993) Recolección de naranjilla (*Solanum quitoense* Lam) en Ecuador. *Boletín técnico* No 27. INIAP. Quito, Ecuador pp 1-6
- Tellez, C.P.; Fischer, G. y Quintero, O. (1999) Physiological and physical-chemical postharvest properties of "Curuba de Castilla" (*Passiflora mollissima* Bailey) stored at refrigerated and enviromental conditions. *Agronomía Colombiana*, 16 (1-3), 13-18
- Thongsook, T. y Barrett, D. M. (2005) Purification and partial characterization of broccoli (*Brassica oleracea* Var. Italica) peroxidases. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 3206-3214
- Tiecher, A.; Arante de Paula, L.; Chaves, F.C. y Rombaldi, C.V. (2013) UV-C effect on ethylene, polyamines and the regulation of tomtto fruit ripening. *Postharvest Biology and Technology*, 86, 230-239
- Tipanluisa, S. (2011) Evaluación de dos Métodos de Control (Práctica Cultural y Microorganismos) contra *Fusarium oxysporum* en el Cultivo de Naranjilla (*Solanum quitoense*). Chaco-Napo. [Tesis] Universidad Técnica de Cotopaxi, Latacunga - Ecuador
- Todorovic, B.; Mikulic-Petkovsek, M.; Stampar, F. e Ivancic, A. (2017) Phenolic compounds in floral infusions of various Sambucus species and their interspecific hybrids. *Turk J Agric For*, 41, 154-164
- Torres, M.A.; Jones, J.D.G. y Dangl, J.L. (2006) Reactive oxygen species signaling in response to pathogens. *Plant Physiology*, 141, 373-378
- Trippi VS.; Pastori G. y González C. (1989) Defensa antioxidante en cultivares de maíz y trigo resistentes y sensibles a la sequía. Pp: 74-79. En: Mejoramiento de la resistencia a la sequía en trigo. Ed: Man Mohan Kohli.

- Turtoi, M. (2013) Ultraviolet light treatment of fresh fruits and vegetables surface: a review. *Journal of Agroalimentary Processes and Technology*, 19 (3), 325-337
- Urbina, G. (2008) Evaluación agronómica de dos variedades y dos híbridos de naranjilla (*Solanum quitoense* Lam) y su respuesta a dos densidades de plantación en Julio Moreno, Provincia Bolívar [Tesis] Universidad Estatal de Bolívar. Ecuador
- Valdenegro, M.; Fuentes, L.; Herrera, R.M. y Moya-León, M.A. (2012) Changes in antioxidant capacity during development and ripening of goldenberry (*Physalis peruviana* L.) fruit and in response to 1-methylcyclopropene treatment. *Postharvest Biol. Technol.*, 67, 110-117
- Valero, D. y Serrano, M. (2010) *Postharvest biology and technology for preserving fruit quality*. CRC Press. Cap. 3
- Valverde, F.; Espinosa, J. y Bastidas, F. (2010) Manejo de la nutrición del cultivo de naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.) en las zonas de producción de la región amazónica y noroccidente de Pichincha. *Informaciones agronómicas*, 79, 8-14
- Van het Hof, K.H.; West, C.E.; Weststrate, J.A. y Hautvast, J.G.A.J. (2000) Dietary Factors That Affect the Bioavailability of Carotenoids. *The Journal of Nutrition*, 130(3), 503–506
- Van Hung, D.; Tong, S.; Tanaka, F.; Yasunaga, E.; Hamanaka, D.; Hiruam, N. y Uchino, T. (2011) Controlling the weight loss of fresh produce during postharvest storage under a nano-size mist environment. *Journal of Food Engineering*, 106, 325-330
- Vanegas-Pérez, L.S. (2012) Innovación en la industria de alimentos. X semana alimentaria "Salud, nutrición e innovación". Colombia, noviembre 2012
- Vasco, C.; Ruales, J. y Kamal-Eldin, A. (2008) Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chemistry*, 111, 816–823
- Vásquez, H.; Ouhibi, C.M.; Lizzi, Y.M.; Azzouz, N.; Forges, M.; Bardin, M.; Nicot, P.; Urban, L. y Aarouf, J. (2017) Pre-harvest hormetic doses of UV-C radiation can decrease susceptibility of lettuce leaves (*Lactuca sativa* L.) to *Botrytis cinerea* L. *Scientia Horticulturae*, 222, 32-39
- Vásquez, W.; Viteri, P.; Martínez, A.; Villares, M.; Ayala, G. y Jácome, R. (2011) Naranjilla (*Solanum quitoense* Lam): tecnologías para mejorar la productividad y la calidad de la fruta. Plegable No. 275-1. INIAP. Quito, Ecuador
- Vermerris, W. y Nicholson, R. (2006) *Phenolic Compound Biochemistry*. Springer. 276p.
- Versantvoort, C.; de Kamp, E. V., y Rempelberg, C. (2004) Development and applicability of an *in vitro* digestion model in assessing the bioaccessibility of contaminants from food *RIVM report 320102002*: Inspectorate for Health Protection
- Viafara, H.; García, F. y Díaz, A. (1997) Reconocimiento y determinación del parasitismo natural de *Neoleucinodes elegantalis* (Guenée) (Pyralide) en algunas zonas productoras de solanáceas del Cauca y Valle del Cauca. [Tesis] Palmira: Universidad Nacional de Colombia. p 1-84
- Vicente, A. R.; Pineda, C.; Lemoine, L.; Civello, P. M.; Martínez, G. A. y Chaves, A. R. (2005) UV-C treatments reduce decay, retain quality and alleviate chilling injury in pepper. *Postharvest Biology and Technology*, 35(1), 69-78
- Vicente, A.R., Martínez, G.A., Chaves, A.R. y Civello, P.M. (2002) Quality of heat-treated strawberry fruit during refrigerated storage. *Postharvest Biol. Technol.*, 25, 59–71.
- Vilaplana, R.; Valentines, M.C.; Toivonen, P. y Larrigaudiere, C. (2006) Antioxidant potential and peroxidative state of “Golden Smoothee” apples treated with 1-methylcyclopropene. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 131, 104–109
- Viteri, P.; Vásquez, W.; León, J.; Viera, W.; Posso, W.; Hinojosa, M. y Ochoa, J. (2009) Naranjilla de jugo (*Solanum quitoense* Lam.) injerta en patrones de solanáceas silvestres resistentes a *Fusarium oxysporum* y a *Meloidogyne incognita*. Informe Técnico Anual-INIAP (Ecuador).

- Wallner-Pendleton, E. A.; Summer, S. S.; Froning, G. W. y Stetson, L. E. (1994) The use of ultraviolet radiation to reduce Salmonella and psychrotrophic bacterial contamination on poultry carcasses. *Poult. Sci.*, 73,1327–1333
- Wang, B.; Wang, J., Feng, X.; Lin, L.; Zhao, Y. y Jiang, W. (2009) Effects of 1-MCP and exogenous ethylene on fruit ripening and antioxidants in stored mango. *Plant Growth Regulation*, 57, 185–192
- Wang, C.Y.; Chen, C. y Wang, S.Y. (2009a) Changes of flavonoid content and antioxidant capacity in blueberries after illumination with UV-C. *Food Chemistry*, 117 (3) 426-431
- Wang, Z.; Li, J.-Y.; Jia, C.-H.; Li, J.-P.; Xu, B.-Y. y Jin, Z.-Q. (2016) Molecular cloning and expression of four phenylalanine ammonia lyase genes from banana interacting with *Fusarium oxysporum*. *Biologia Plantarum*, 60 (3), 459-468
- Watada, A.E.; Ko, N.P. y Minott, D.A. (1996) Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products, *Postharvest Biology and Technology*, 9, 115-125
- Watanabe, J.; Oki, T., Takebayashi, J.; Yada, H., Wagaki, M.; Takano-Ishikawa, Y. y Yasui, A. (2016) Improvement and Interlaboratory Validation of the Lipophilic Oxygen Radical Absorbance Capacity: Determination of Antioxidant Capacities of Lipophilic Antioxidant Solutions and Food Extracts. *Analytical Sciences*, 32(2), 171–175
- Watkins, C.B. (2002) «Ethylene synthesis, mode of action, consequences and control». En Knee, Michael. *Fruit Quality and its Biological Basis*. Sheffield, Reino Unido: Sheffield Academic Press. pp. 180-224
- Watkins, C.B. (2006) The use of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on fruits and vegetables. *Biotechnology Advances*. 24, 389-409
- Watkins, C.B. (2007) The effect of 1-MCP on the development of physiological storage disorders in horticultural crops. *Stewart Postharvest Review*, 2:11
- Watkins, C.B. y Miller, W.B. (2005) 1-Methycyclopropene (1-MCP) based technologies for storage and shelf-life extension. *Acta Horticulturae*, 687, 201-208
- Wei, J., Ma, F., Shi, S., Qi, X., Zhu, X. y Yuan, J. (2010) Changes and postharvest regulation of activity and gene expression of enzymes related to cell wall degradation in ripening apple fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 56(2), 147–154
- Wickham, M.; Faulks, R. y Mills, C. (2009) *In vitro* digestion methods for assessing the effect of food structure on allergen breakdown. *Institute of Food Research*, 53, 952-980
- Wills, R. B. H., y Warton, M. A. (2000) A new rating scale for ethylene action on postharvest fruit and vegetables. In: *Improving Postharvest Technologies of Fruits, Vegetables and Ornamentals*.pp.43–47.
- Wills, R.; McGlasson, B.; Graham, D. y Joyce, D. (1999) Introducción a la fisiología y manipulación poscosecha de frutas, hortalizas y plantas ornamentales. Editorial Acribia. 2da Edición. España
- Wills, R.B.H. y Golding, J.B. (2016) *Postharvest An introduction to the physiology and handling of fruit and vegetables*. 6th. Edition. UNXW Press Australia. Chapter 3
- Wisutiamonkul, A., Ketsa, S. y van Doorn, W. G. (2015) Endogenous ethylene regulates accumulation of α - and β -carotene in the pulp of harvested durian fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 110, 18–23
- Woolf, A.B.; Requejo-Tapia, C.; Cox, K.A.; Jackman, R.C.; Gunson, A.; Arpaia, M.L. y White, A. (2005) 1-MCP reduces physiological storage disorders of “Hass” avocados. *Postharvest Biology and Technology*, 35, 43–60
- Wu, J.; Liu, W., Yuan, L.; Guan, W.; Brennan, C.S.; Zhang, Y.; Zhang, J. y Wang, Z. (2017) The influence of postharvest UV-C treatment on anthocyanin biosynthesis in fresh-cut red cabbage. *Nature Scientific reports*, 7, 5232
- Wu, X.; An, X.; Yu, M.; Ma, R.; y Yu, Z. (2018) 1-Methylcyclopropene Treatment on Phenolics and the Antioxidant System in Postharvest Peach Combined with the Liquid Chromatography/Mass Spectrometry Technique. *J. Agric. Food Chem.* 66, 6364-6372

- Xu, X.; Lei, H.; Ma, X.; Lai, T.; Song, H.; Shi, X. y Li, J. (2017) Antifungal activity of 1-methylcyclopropene (1-MCP) against anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) in postharvest mango fruit and its possible mechanisms of action. *International Journal of Food Microbiology*, 241, 1–6
- Yang, M.; Kool, S.; Song, W. y Chun, O. (2011) Food matrix affecting anthocyanin bioavailability: review. *Curr Med Chem*, 18(2), 291-300
- Yang, Z.; Cao, S.; Su, X. y Jian, Y. (2014) Respiratory activity and mitochondrial membrane associated with fruit senescence in postharvest peaches in response to UV-C treatment. *Food Chemistry*, 161, 16-21
- Yao, H. J. y Tian, S. P. (2005) Effects of a pre-and post-harvest application of salicylic acid of methyl jasmonate on inducing disease resistance of sweet cherry fruit in storage. *Postharvest Biology Technology*, 35, 253 -262
- Yeats, T.H. y Rose, J.K.C. (2013) The formation and function of plant cuticles. *Plant Physiol.*, 163, 5-20
- Yin, Y.; Bi, Y.; Chen, S.M.; Li, Y.; Ge, Y.; Ding, B.; Li, Y. y Zhang, Z. (2011) Chemical composition and antifungal activity of cuticular wax isolated from Asian pear fruit (cv. Pingguoli). *Scientia Horticulturae*, 129, 577-582
- Yommi, A.; Melucci, M.C.; Casanovas, M.; Quillehauquy, V.; Borrajo, M.P. y Fasciglione, G. (2016) Uso de atmósfera controlada y 1-MCP en kiwis Hayward producidos en Argentina: efectos sobre la maduración. *Revista de Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de La Plata. Vol. 115*, 01
- Yoruk, R. y Marshall, M.R. (2003) Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase: a review. *J. Food Biochem.*, 27, 361–422
- Yuan, G.; Sun, B.; Yuan, J. y Wang, Q. (2010) Effect of 1-methylcyclopropene on shelf life, visual quality, antioxidant enzymes and health-promoting compounds in broccoli florets. *Food Chemistry*, 118(3), 774-781
- Yuwen, T.; Yike, J.; Chi-Tang, H. y Qingrong, H. (2014) Common delivery systems for enhancing *in vivo* bioavailability and biological efficacy of nutraceuticals. *Functional foods*, 7, 112-128
- Zhang H.; Wang Z. y Liu, O. (2015) Development and validation of a GC–FID method for quantitative analysis of oleic acid and related fatty acids. *J. Pharmaceutical Analysis*, 5, 223–230
- Zhang, D. y Quantick, P.C (1998) Antifungal effects of chitosan coating on fresh strawberries and raspberries during storage. *J. Hort. Sci. Biotechnol.*, 73, 763–767
- Zhang, J.; Wang, X.; Yu, O.; Tang, J.; Gu, X.; Wan, X. y Fang, C. (2011) Metabolic profiling of strawberry (*Fragaria xananassa* Duch.) during fruit development and maturation, *Journal of Experimental Botany*, 62 (3), 1103–1118
- Zhang, Z.; Tian, S.; Zhu, Z.; Xu, Y. y Qin, G. (2012) Effects of 1-methylcyclopropene(1-MCP) on ripening and resistance of jujube (*Zizyphus jujuba* cv. Huping) fruit against postharvest disease. *LWT - Food Science and Technology*, 45, 13-19
- Zhu, F.; Sakulnak, R. y Wang, S. (2016) Effect of black tea on antioxidant, textural, and sensory properties of Chinese steamed bread. *Food Chemistry*, 194, 1217-1223
- Zhu, X.; Shen, L.; Fu, D.; Si, Z.; Wu, B.; Chen, W. y Li, X. (2015) Effects of the combination treatment of 1-MCP and ethylene on the ripening of harvested banana fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 107, 23–32.
- Zimmermann, P. y Zentgraf, U. (2005) The correlation between oxidative stress and leaf senescence during plan development. *Cell. Mol. Biol. Lett.*, 10, 515–534